EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY Oct 21 '53

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

L. Courvoisier» «Relativ» oder «absolut»? *Beobachtungen zur Bestimmung der «absoluten» Erdbewegung* 317
J. G. Carr: Towards the Elimination of the Fowl Leukosis Complex 326

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

E. J. Corey: Prediction of the Stereochemistry of α-Brominated Ketosteroids 329
A. Furlenmeier, R. Lucas, H. B. MacPhillamy, J. M. Müller, and E. Schlittler: On the Constitution of Reserpine 331
(Mrs.) D. Chakravarti, R. N. Chakravarti, and S. C. Chakravarti: Chemistry of Arborine 333
S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw und T. Reichstein: Isolierung eines neuen kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel . . . 333
R. Fischer: The Gram-Staining Behaviour of Spermatozoa 335
C. Barigozzi and L. Petrella: Number and Behaviour of Chromosomes in *Aphiochaeta xanthina* Speiser 337
G. de Lattin und F.-J. Gross: Die Beeinflussbarkeit sekundärer Geschlechtsmerkmale von *Oniscus asellus* durch die Gonaden 338
S. Mookerjee: Thermal Exposures of Ectoderm Cells Isolated from Amphibian Gastrulae 340
H. Lück: Abhängigkeit der Katalaseaktivität von der H_2O_2-Konzentration 340
Maria Assunta Mor: ATPase Activity of Myofibrils and Granules Isolated from Muscle 342
M. U. Dianzani: Action of Papain and of Trypsin on the Morphology and some Enzymatic Activities of Isolated Mitochondria 343
H. Holter, M. Ottesen, and R. Weber: Separation of Cytoplasmic Particles by Centrifugation in a Density-Gradient 346
P. Rondoni and G. Cudkowicz: Hydrogen Peroxide in Tumours 348
Linde Grosskinski, E. Stürmer und A. Loeser: Über das Verhalten von Grünalgen bei Einwirkung mehrwertiger Alkohole 349

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Gesteine und Minerallagerstätten, II. Band. Von P. Niggli (Verlag Birkhäuser, Basel 1952) (Ref. E. Baier) 351

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: M. Gabe: Quelques acquisitions récentes sur les glandes endocrines des arthropodes 352

Calcium-Carbid für Beleuchtungs-, Heiz- und Schweisszwecke

Metallegierungen: Ferrosilicium, Reinsilicium, Silico-Aluminium, Silico-Aluminium-Mangan — Graphit

Künstliche Schleifmittel: Siliciumcarbid, Lonsicar (Siliciumcarbid) für Hartbeton

Stickstoff-Dünger: Kalksalpeter, Ammonsalpeter, Ammonsulfat, Kalkstickstoff

Komplex-Dünger: Nitrophosphat, Nitrophosphatkali, Volldünger, Composto Lonza

Chemische Produkte: Formaldehyd, Acetaldehyd, Crotonaldehyd, Paraldehyd, Essigsäure, Essigsäureanhydrid, Natriumacetat, Dicyandiamid, Guanidinnitrat, Ammoniak, Salpetersäure, Nitriersäure, Natriumnitrit, Natriumnitrat, Harnstoff, Ammonnitrat, Nitrobenzol, Anilinöl, Vinylacetat monomer

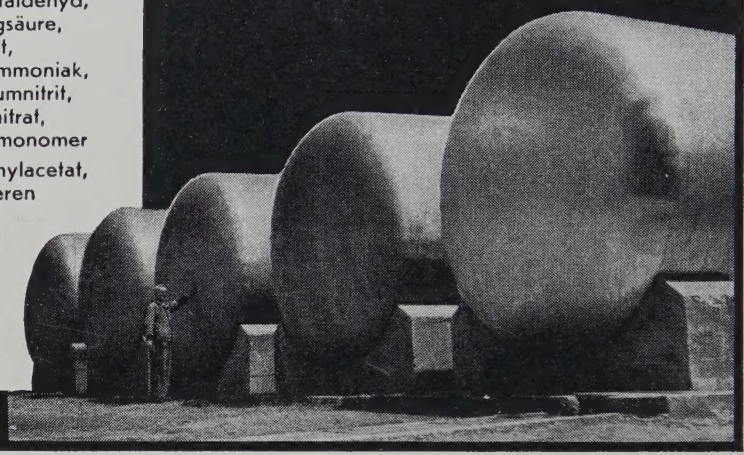
Organische Lösungsmittel: Aceton, Aethylacetat, Methyl- und Butylalkohol und deren Acetate, Speziallösungsmittel

Cellulose-Acetat

Vinylharze: Polyvinylchlorid, Polyvinylacetat, Polyvinylalkohol, Mischpolymerisate

LONZA

ELEKTRIZITÄTSWERKE
UND
CHEMISCHE FABRIKEN
AKTIENGESELLSCHAFT
BASEL



Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia IX/9

Birkhäuser AG., Basel
Ciba AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
J. R. Geigy AG., Basel
Lonza AG., Basel
Mettler E., Zürich
Publicitas AG., Basel
Salvis AG., Luzern
Sandoz AG., Basel
Schwitter AG., Basel
Verlag Chemie, Weinheim
H. Wild, Heerbrugg

Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern bei der Post abonniert werden:
Des abonnements pour EXPERIENTIA peuvent être commandés près des bureaux de postes des pays suivants:

Italien, Deutschland, Belgien, Luxemburg, Holland, Dänemark, Norwegen, Schweden, Finnland, Portugal, Marokko

---

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an 32 francs pour la Suisse; pour l'étranger 38 francs. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 32.–, im Ausland sFr. 38.–.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, $^1/_2$ Seite Fr. 132.–, $^1/_4$ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 32.– per la Svizzera; all'estero fr. 38.–. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

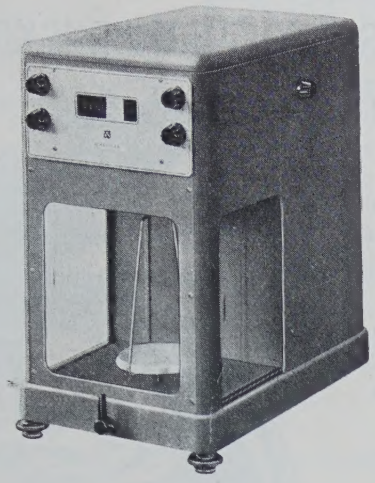
EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription by inland mail is fr. 32.–; other countries fr. 38.–. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, $^1/_2$ page fr. 132.–, $^1/_4$ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Copyright 1953 by Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15, Telephon (061) 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

---

Printed in Switzerland by E. Birkhäuser & Cie. AG., Basel



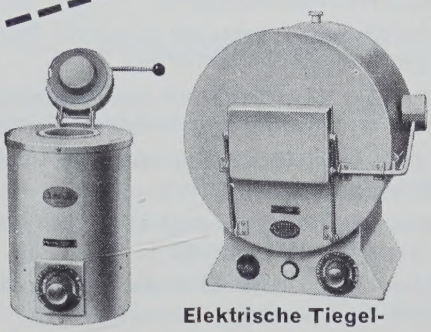
Mit der **METTLER**-Analysenwaage arbeiten Sie schneller, sicherer und genauer

Verlangen Sie Offerte oder unverbindliche Demonstration der verschiedenen Typen.

E. METTLER
Zürich 1

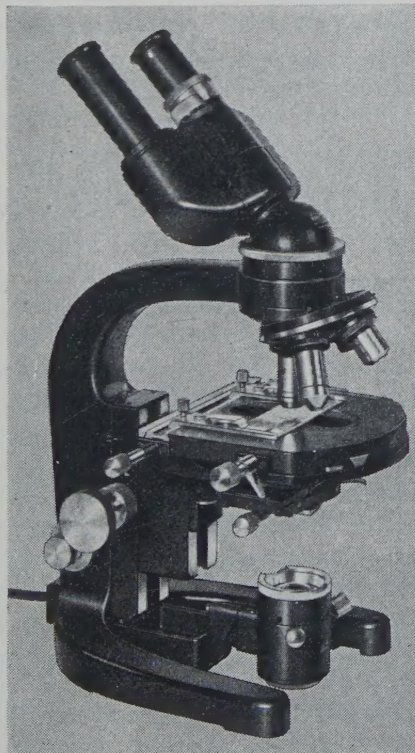
Fabrik für Analysenwaagen
Pelikanstrasse 19, Telephon 252570

Elektrische Wärmegeräte
für Laboratorien



Elektrische Tiegel- und Muffelöfen

Salvis
SALVIS AG. Luzern-Emmenbrücke
Fabrik elektrischer Apparate



Moderne Forschungsmikroskope

(Schweizer Präzisionsinstrumente)

für alle mikroskopischen Untersuchungen. **Speziell reichhaltiges Zubehör:** Hochleistungsobjektive Wild-Fluotare, Phasenkontrast-Einrichtung, mikrophotographische Aufsatzkamera, leistungsfähige Niedervolt-Mikroskopierlampe, Dunkelfeld-Immersionskondensor, Elektromagnetische Feinbewegung, Projektions- und Zeichenspiegel, Schräglicht-Epilampen für Auflicht, Anstecklampe, Spezial-Phasenkondensor mit langer Schnittweite, Polarisations-Ausrüstung. – Ausführliche Beschreibung im Katalog Mi 511 d.

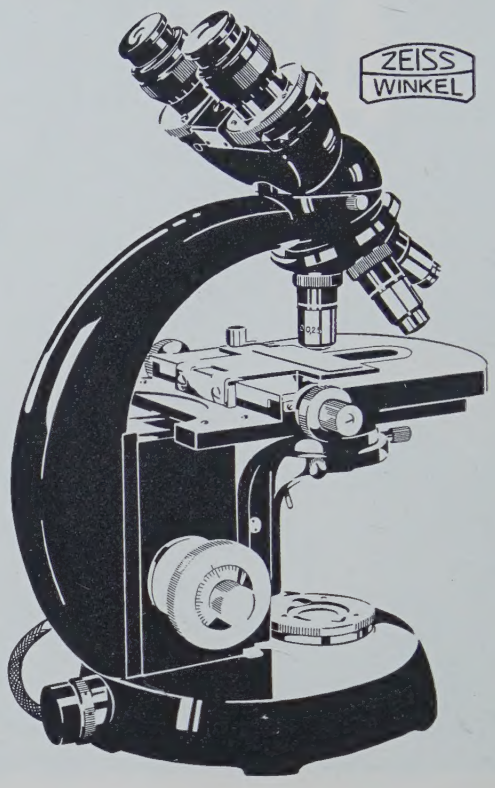
WILD
HEERBRUGG

★

NEUES ZEISS-WINKEL STANDARD-MIKROSKOP GF 525

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie**
- **Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrösserungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**
- **Neue Achromate und Neofluare mit dezimal-geometrischer Abstufung der Vergrösserungen**



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TEL.(051) 23 97 73
Zürich

E. I. du Pont de Nemours and Company, Inc., chemical manufacturers of Wilmington, Delaware, U.S.A., require for permanent positions in their laboratories in Buffalo, New York:

THREE MEN having a Ph. D. degree in **ORGANIC CHEMISTRY,** and **THREE MEN** having a Ph. D. degree in **PHYSICAL CHEMISTRY,** for fundamental and applied research on polyethylene, polyester and similar films, and film-forming polymers. The men should be under 32 years of age.

Also,

THREE MECHANICAL ENGINEERS, for research on film-forming processes and on design of process equipment. The men should be over 25 and under 32 years of age, trained in theory and have a B. Sc. degree in Mechanical Engineering or equivalent.

Salaries are commensurate with age and experience, and at present U.S.A. scales.

Apply in writing to Du Pont, Bush House, Aldwych, London, W.C. 2, stating age, educational qualifications, experience, country of birth, and give full particulars.

EXPERIENTIA

Vol. IX - Fasc. 9 Pag. 317–356 15. IX. 1953

« Relativ » oder « absolut » ?

Beobachtungen zur Bestimmung der «absoluten» Erdbewegung

Von Leo Courvoisier [1]

Einleitung

Im Jahre 1920 entdeckte der Verfasser bei der Durchsicht der Resultate von wertvollen alten Meridianbeobachtungen polnaher Sterne, bei denen die Sterne sowohl direkt als auch an einem Quecksilberhorizont gespiegelt eingestellt worden waren, einen gut erkennbaren, mit dem Sterntag periodischen Unterschied von Reflexionswinkel und Einfallswinkel des Sternlichtes. Diese Erscheinung bedeutet eine erstmalige direkte Bestätigung der klassischen «Absoluttheorie» (Lichtäthertheorie), gemäss der sie mathematisch darstellbar und als Auswirkung einer sehr grossen «absoluten» Translationsbewegung der Erde (relativ zum Lichtäther) zu betrachten ist, die damit umgekehrt aus ihr bestimmbar wird. Bei der Grösse dieser Bewegung war auch eine ihr entsprechende messbare Lorentz-Kontraktion zu erwarten, die ihrerseits ebenfalls einen Rückschluss auf die Bewegung selbst zulässt.

Für den Verfasser war diese Entdeckung dann der Ausgangspunkt einer mehr als dreissigjährigen Reihe umfangreicher und ganz verschiedenartiger Untersuchungen über die «absolute» Erdbewegung, in der ein grosses Material von Beobachtungen gesammelt und ausgewertet wurde. Da diese Arbeiten jetzt mit der Ableitung der Lorentz-Kontraktion aus der beobachteten Gangschwankung der Quarzuhren zum Abschluss gekommen sind, soll hier eine endgültige Zusammenstellung der bisherigen Beobachtungsresultate dem Leser vor Augen geführt werden, damit er sich selbst ein Urteil über die durch sie aufgeworfene Frage: «relativ» oder «absolut»? bilden kann.

Im folgenden seien also die wichtigsten der zahlreichen verschiedenen Beobachtungen und die Beobachtungsmethoden, nach denen der Verfasser gemäss der Absoluttheorie die «absolute» Translationsbewegung der Erde im Laufe der Zeit bestimmen konnte, der Reihe nach kurz besprochen. Dabei sind drei Arten von Bestimmungen zu unterscheiden: a) solche, die nach dem «Prinzip des bewegten Spiegels» unternommen sind, wo ein Unterschied zwischen Reflexionswinkel und Einfallswinkel unmittelbar aus der Theorie folgt; oder b) nach dem «Prinzip der Lorentz-Kontraktion», bei dem die Theorie indirekt über eine Hypothese geprüft wird; oder endlich c) nach anderen Methoden, wobei auch noch die Tatsache der «Jährlichen Refraktion» erwähnt wird. Als Resultate werden jedesmal die aus den Beobachtungen berechneten äquatorialen sphärischen Koordinaten A und D des Zielpunktes der «absoluten» Translationsbewegung der Erde und ihre Geschwindigkeit v angegeben, während die Ableitung derselben aus den Originalarbeiten des Verfassers zu ersehen ist, auf die durch Fussnoten hingewiesen wird.

[1] Riehen bei Basel.

Die Beobachtungen und ihre Ergebnisse

a) *Prinzip des bewegten Spiegels*

1. Die Untersuchungen des Verfassers begannen, wie schon erwähnt, 1920 mit der überraschenden Auffindung eines deutlichen periodischen *Unterschiedes von Reflexionswinkel und Einfallswinkel* des Sternlichtes am Quecksilberhorizont, bei sehr genauen *Zenitdistanzmessungen von polnahen Sternen* am Meridiankreis der Sternwarte in Leiden (1862–1874), unter jedesmaliger Einstellung sowohl des direkt gesehenen Sterns wie seines Spiegelbildes. Durch strenge rechnerische Ausgleichung der Beobachtungen nach einer vom Verfasser abgeleiteten Formel[1] findet man für die «absolute» Translationsbewegung der Erde: $A = 104° \pm 21°$ (mittlerer Fehler), $D = +39° \pm 27°$, $v = 810 \pm 215$ km/s, wobei die sterntägliche Schwankung in den beobachteten Unterschieden ungefähr $0''{,}5$ beträgt, also noch gut messbar war[2]. Dieses Resultat wurde zunächst durch eine ebensolche Ausgleichung vieler ähnlicher «Reflektiert-Direkt»-Beobachtungen in Greenwich bestätigt[3].

2. Ein viel genaueres, aber mit dem obigen übereinstimmendes Ergebnis hatten die daraufhin vom Verfasser 1921/22 am Vertikalkreis der Sternwarte Berlin-Babelsberg in allen Stundenwinkeln durchgeführten über 200 Zenitdistanzmessungen des besonders polnahen Sterns $BD + 89°3$ und seines Spiegelbildes, in-

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926). – *Über die theoretische Ungleichheit von Reflexionswinkel und Einfallswinkel am bewegten Spiegel*, Verh. naturforsch. Ges. Basel *57 I*, 25 (1946).

[2] *Über astronomische Methoden zur Prüfung der Lichtätherhypothese*, Astron. Nachr. *214*, 33 (1921). – *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

[3] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

dem aus der Ausgleichungsrechnung hervorging: $A = 93° \pm 7°$, $D = +27° \pm 12°$, $v = 652 \pm 71$ km/s[1].

3. Ähnliche Beobachtungsreihen des Polarsterns an den Vertikalkreisen der Sternwarten in München (1930/31) und Breslau (1933–1935) ausgeführt, ergaben, in Bestätigung der vorigen Resultate, für München: $A = 73° \pm 6°$, und unter Annahme des plausiblen Wertes $D = +40°$, noch: $v = 889 \pm 93$ km/s[2],

4. für Breslau: $A = 92° \pm 12°$, $D = +44° \pm 25°$, $v = 927 \pm 200$ km/s[2]. Damit konnte man als genähertes Gesamtresultat einstweilen annehmen: $A = 80° \pm 4°$, $D = +30° \pm 10°$, $v = 700 \pm 60$ km/s.

5. Zur *Kontrolle* dieser astronomischen Bestimmungen der «absoluten» Erdbewegung hat dann der Verfasser 1945 am Passageninstrument der Sternwarte in Basel bei einer über zwölf Stunden in Rektaszension verteilten Gruppe von Sternpaaren mit nahe gleichen nördlichen und südlichen Zenitdistanzen nach der besonders genauen Horrebow-Methode die *Zenitdistanzdifferenzen* der wie früher sowohl direkt als auch reflektiert gesehenen Sterne vermessen und so die halbtägige Welle im Unterschied von Reflexionswinkel und Einfallswinkel erhalten. Das Ausgleichungsresultat war: $A = 60° \pm 14°$, und mit der Annahme $D = +40°$: $v = 656 \pm 157$ km/s, es bestätigte also das frühere Gesamtergebnis völlig genügend[3].

6. Eine weitere *Kontrolle* bietet ein *rein terrestrischer Versuch* dar. Da die durchschnittliche relative Geschwindigkeit der uns umgebenden Fixsterne nur ein kleiner Bruchteil der grossen Translationsgeschwindigkeit der Erde bzw. des Sonnensystems ist, so muss man daraus schliessen, dass zum mindesten diese Fixsterne an der Translationsbewegung teilnehmen. Es kann also an Stelle des einfallenden Lichtes irgendeines solchen Fixsterns ebenso gut dasjenige einer *irdischen Lichtquelle* verwendet werden. Dementsprechend wurde folgende erste Versuchseinrichtung getroffen: auf dem schweren Betonfussboden des grossen Uhrenkellers der Sternwarte in Babelsberg waren *zwei Fernrohre* in derselben Vertikalebene (Azimut etwa 100°) fest aufgestellt und symmetrisch gegen einen zwischen ihnen liegenden Quecksilberhorizont unter 60° Einfallswinkel geneigt. Das westliche, mit festem Fadenkreuz und Beleuchtungslämpchen versehen, lieferte als Kollimator den einfallenden Lichtstrahl, während das Okularmikrometer des östlichen Messfernrohrs zur Höheneinstellung des Kollimatorfadenreflexes diente. Es war so eine fortlaufende *Messung der* sterntäglichen *Schwankung in der Differenz Reflexionswinkel–Einfallswinkel*, möglich. Zwei vom Verfasser 1926 und 1927 ausgeführte Beobachtungsreihen ergaben als einfachen Mittelwert der Ausgleichungsresultate, ohne Berücksichtigung der Bodenneigung und der eventuellen Beeinflussung durch thermische, von der Insolation hervorgerufene Wellen des Erdbodens: $A = 46° \pm 4°$, $D = +52° \pm 8°$, $v = 550 \pm 40$ km/s, in naher Übereinstimmung mit den Annahmen. Um die Messungen vervollständigen zu können, wurde dann, nach einigen Vorversuchen, ein *besonderer Apparat* gebaut, mit zwei gleich grossen Fernrohren, die in ähnlicher Weise, aber auf einem drehbaren und ausserdem mit zwei Libellen versehenen horizontalen Lagerbalken montiert waren und auf zwei verschiedene Einfallswinkel eingestellt werden konnten. Bei Messungen in zwei um 180° verschiedenen Lagen des Apparates konnte daher unmittelbar, unter Anbringung der Neigungskorrektion, der Unterschied von Reflexionswinkel und Einfallswinkel bestimmt werden. Mit diesem *Absolutbewegungsmesser* hat der Verfasser noch sieben Messungsreihen in der Ost-West-Richtung, ausschliesslich zu den Sternzeiten des Maximums und Minimums des Effektes angestellt, eine 1932, die übrigen im Frühjahr 1933, vier davon bei ruhendem Instrument, drei in beiden Lagen desselben. Die Resultate bestätigen zwar durchwegs die mit den Annahmen: $A = 75°$, $D = +40°$, $v = 400$ km/s berechneten Sollwerte, indem das einfache Gesamtmittel von v rund 390 ± 20 km/s beträgt, aber dieses v ist erheblich kleiner als das bisher bestimmte. Der Grund dürfte vor allem in der Gegenwirkung der erwähnten periodischen thermischen Bodenaufwölbungen liegen, die sich jedesmal in einem auffallenden Parallelgehen der unmittelbaren, für Neigung noch nicht korrigierten Ablesungsdifferenzen mit der Sonnenscheindauer zeigte, zum Teil auch wohl in der Trägheit der Libellen, welche die beobachteten Neigungsunterschiede systematisch etwas verfälschen kann, was um so leichter möglich ist, als eine Vergrösserung des Mittels der erhaltenen Ablesungsdifferenzen von kaum 0″,1 schon allgemein genügen würde, um v auf 600 km/s zu erhöhen[1].

b) *Prinzip der Lorentz-Kontraktion*

1. Die Lorentz-Kontraktion der Erde bewirkt eine *periodische Lotschwankung* von einem ganzen und einem halben Sterntag, die sich astronomisch vor allem in einer ebensolchen *Polhöhenschwankung* äussert. Die halbtägige Schwankung lässt sich aus *Zenitdistanzmessungen polnaher Sterne* in allen Stundenwinkeln bestimmen, und daraus ergibt sich wieder, wenn man für D einen plausiblen Wert einsetzt, die Grösse und Richtung der «absoluten» Erdbewegung, wie die folgenden, chronologisch geordneten Beobachtungsresultate zeigen. Eine Bearbeitung der in Paris 1899–1901 angestellten Meridianbeobachtungen der drei sehr polnahen Sterne $BD + 89°3$, 35 und 37 liefert zunächst:

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926). – *Die «absolute» Bewegung der Erde nach neueren Polsternbeobachtungen an Vertikalkreisen*, Astron. Nachr. *262*, 201 (1937).

[2] *Die «absolute» Bewegung der Erde nach neueren Polsternbeobachtungen an Vertikalkreisen*, Astron. Nachr. *262*, 201 (1937).

[3] *Neuartige Kontrollbeobachtungen für die astronomischen Bestimmungen der «absoluten» Erdbewegung nach dem Prinzip des bewegten Spiegels*, Verh. naturforsch. Ges. Basel *57 I*, 30 (1946).

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther II*, Astron. Nachr. *230*, 425 (1927); *V*, Astron. Nachr. *249*, 273 (1933)

$A = 70° \pm 11°$, und mit $D = +40°$: $v = 810 \pm 166$ km/s[1].

2. Ferner wurden vom Verfasser in den Jahren 1914 bis 1926 am Vertikalkreis der Sternwarte in Babelsberg vier grosse Reihen von Zenitdistanzmessungen der Polsterne $BD + 89°3$ und 37 durchgeführt, mit dem Gesamtergebnis der Ausgleichungen: $A = 74° \pm 3°$, und mit $D = +40°$: $v = 587 \pm 48$ km/s[2].

3. Am Vertikalkreis in Breslau ergaben zwei 1923–1925 und 1933–1935 in ähnlicher Weise erhaltene Beobachtungsreihen des Polarsterns, ohne Berücksichtigung der individuellen Kreisteilungsfehler: $A = 61° \pm 21°$, und mit $D = +40°$: $v = 344 \pm 124$ km/s[3].

4. Schliesslich bekommt man aus vier ähnlichen am Vertikalkreis in München 1927–1931 angestellten Beobachtungsreihen des Polarsterns, ebenfalls unter Vernachlässigung individueller Teilungsfehler: $A = 53° \pm 5°$ und mit $D = +40°$ noch: $v = 555 \pm 48$ km/s[3]. Es ist klar, dass alle diese Zahlenergebnisse, deren Mittel rund: $A = 69° \pm 2°{,}5$, $(D = +40)$, $v = 570 \pm 30$ km/s beträgt, mit den vom Verfasser allgemein angenommenen Werten: $A = 75°$, $D = +40°$, $v = 600$ km/s nahe übereinstimmen und dass damit die Existenz der Lorentz-Kontraktion eigentlich schon bewiesen wird.

5. Ausserdem ist zu bemerken, dass die bisher aus absolut gemessenen Meridian-Zenitdistanzen abgeleiteten *Sterndeklinationen* wegen der Nichtberücksichtigung der sterntäglichen Lot- bzw. Polhöhenschwankung *fehlerhaft* sind. Die an Orten von stark verschiedener Breite bestimmten Deklinationen derselben Sterne können daher merkliche Unterschiede aufweisen. Eine *Vergleichung der beiden* um 1900 erhaltenen *Zodiakalsternkataloge von Kapstadt und Heidelberg* ergibt für die Differenzen der Deklinationen Cape-Heidelberg neben einem konstanten Betrag von $+0''{,}16$ eine Doppelwelle mit der Rektaszension von rund $0''{,}4$ und $0''{,}2$ Amplitude, in guter Übereinstimmung mit den theoretisch unter Annahme von $A = 75$, $D = +40°$, $v = 750$ km/s berechneten Zahlenwerten[4].

6. Ein anderes vom Verfasser vorgeschlagenes und erprobtes astronomisches Verfahren, die Lotschwankung zu bestimmen, besteht darin, *an einem Meridianinstrument* mit geradem Fernrohr den *Durchgang eines polnahen Sterns* sowohl bei direkt als auch an einem Quecksilberhorizont reflektiert gesehenem Sternbild zu beobachten. Aus dem Unterschied dieser auf den Mittelfaden reduzierten Durchgangszeiten ergibt sich dann die Neigung der Umdrehungsachse, während das gleichzeitig abgelesene Achsenniveau die Summe dieser Neigung und der doppelten Lotschwankung anzeigt, womit letztere gegeben ist. Es wurden vom Verfasser an dem kleinen Meridiankreis der Sternwarte in Basel 1946–1948 derartige Beobachtungsreihen vom Polarstern, von δ Urs. min. und von 1 H. Drac. ausgeführt, deren Resultate mit den nach den allgemeinen Annahmen für A, D und v berechneten Sollwerten fast identisch sind. Das Verfahren wird zum rein terrestrischen Versuch, wenn man an Stelle der Sternbeobachtung mittels des Registriermikrometers fortlaufend den Nadirpunkt in der Ost–West-Richtung bestimmt und zugleich das Achsenniveau abliest. Aus dem sterntäglichen Gang der Differenz von Niveau und Mikrometer folgt dann wieder die Lotschwankung in der betreffenden Richtung[1].

7. Auf astronomischem Wege findet man ferner die Lorentz-Kontraktion der Erde auch aus den *Beobachtungen der jährlichen und vierzehnmonatlichen Polhöhenschwankungen*. Nach einer diesbezüglichen Untersuchung des Verfassers[2] erzeugt die Lorentz-Kontraktion eine Art von Ebbeerscheinung, deren periodischer Massentransport eine entsprechende Polschwankung hervorruft. Der geometrische Pol der Erde beschreibt nämlich in erzwungener sterntäglicher Schwingung im Sinne der Erdumdrehung um den im Raume so gut wie feststehenden Rotationspol einen kleinen Kreis vom Radius $0''{,}108$, wenn wieder $A = 75°$, $D = +40°$, $v = 600$ km/s gesetzt wird; ausserdem wird aber dadurch in freier Schwingung ein Umlauf dieses Poles von 14 Monaten in demselben Kreis ausgelöst. Nun bewirken noch meteorologische Vorgänge in erzwungener Schwingung eine jährliche Polschwankung mit einer von verschiedenen Autoren geschätzten mittleren Amplitude von $0''{,}07$, während der mittlere Halbmesser der vierzehnmonatlichen freien Polbahn zu $0''{,}167$ angegeben wird. Da die Amplitude der meteorologisch bedingten freien Schwingung somit $0''{,}07$ im Durchschnitt nicht übersteigen wird, bleibt ein zu erklärender Rest von rund $0''{,}10$ im beobachteten Radius der freien Polbahn übrig, der, wie man sieht, ausgezeichnet durch die von der Lorentz-Kontraktion herrührenden freien Schwingung $0''{,}108$ dargestellt wird. Letztere bildet also gewissermassen das konstante Fundament der durch die meteorologischen Einflüsse sehr veränderlichen Gesamtschwankung[2].

8. Endlich beruht auf astronomischen Beobachtungen (Zeitbestimmungen) auch die festgestellte *jährliche Gangschwankung der Quarzuhren*, die zu einem erheblichen Teil von der Lorentz-Kontraktion verursacht wird. Es handelt sich hier ebenso wie im vorigen Falle um eine Kombination der Wirkungen der Lorentz-Kontraktion und meteorologischer Vorgänge. Letztere haben eine Jahresschwankung in der Rotationsdauer

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

[2] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926). – *Die «absolute» Bewegung der Erde nach neueren Polsternbeobachtungen an Vertikalkreisen*, Astron. Nachr. *262*, 201 (1937).

[3] *Die «absolute» Bewegung der Erde nach neueren Polsternbeobachtungen an Vertikalkreisen*, Astron. Nachr. *262*, 201 (1937).

[4] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

[1] *Ein einfaches astronomisches Beobachtungsverfahren zum erneuten Nachweis der «Lorentz-Kontraktion»*, Verh. naturforsch. Ges. Basel, *59*, 1 (1948).

[2] *Über die Polhöhenschwankungen infolge der Lorentz-Kontraktion der Erde*, Z. Geophys. *IV*, 49 (1928).

der Erde, die Lorentz-Kontraktion dagegen hat direkt eine sterntägliche Gangschwankung einer Quarzuhr zur Folge, die aber in einer scheinbar jährlichen zutage tritt. Da aus Vergleichungen zwischen Quarzuhren und Pendeluhren sich eine vollkommene Parallelität im Gang beider Uhrenarten ergab, konnte der Verfasser die für eine Pendeluhr geltende theoretische Gangschwankungsformel ohne weiteres auch bei einer Quarzuhr anwenden. Diese wieder auf Grund der allgemeinen Annahmen: $A = 75°$, $D = +40°$, $v = 600$ km/s aufgestellte Formel besagt nun erstens, dass die Gangschwankung ausser der Hauptperiode von einem Sterntag bzw. einem Jahr noch eine halbtägige bzw. halbjährliche hat, und zweitens, dass die Jahreskurven der Uhrkorrektionen an südlichen Beobachtungsstationen sich zu denjenigen an nördlichen Stationen spiegelbildlich verhalten müssen. Beides trifft tatsächlich vollständig zu, und zwar, abgesehen von der geringeren theoretischen Amplitude der Schwankung, auch in quantitativer Hinsicht. Daraus ist nicht nur zu ersehen, dass jahreszeitliche Veränderungen in den meteorologischen Verhältnissen der Erde nicht die einzige Ursache des beobachteten Effektes sein können, sondern es ist damit auch einer der wichtigsten Beweise für das Vorhandensein der Lorentz-Kontraktion erbracht[1].

9. Das *einfachste rein terrestrische Verfahren*, die sterntägliche Lotschwankung infolge der Lorentz-Kontraktion der Erde nachzuweisen, besteht in *Dauerablesungen einer* auf einem Pfeiler in einem thermisch günstigen Raume gelagerten feinen *Libelle*. Es werden Änderungen der Ablesung eintreten, einerseits wegen der Lotablenkung und andererseits wegen der Neigung der Pfeileroberfläche, und zwar im selben Sinne und in gleicher Grösse. Zwei vom Verfasser im kleinen Uhrenkeller der Babelsberger Sternwarte 1929 angestellte zehntägige Beobachtungsreihen, die erste im Mai, mit zwei Libellen, die zweite im Juni, mit der auf dem später zu besprechenden «Neigungsmesser» fest aufgestellten Libelle, bestätigen die allgemeinen Annahmen: $A = 75°$, $D = +40°$, ergeben aber merklich kleinere Amplituden von etwa $v = 400$ km/s, die vermutlich sowohl durch die Trägheit der Libellen als auch durch leichte, der Lotschwankung entgegengesetzt verlaufende, wegen Insolation entstehende thermische Bodenwellen verursacht werden[2].

10. Bei der Auswertung der anfangs besprochenen Zenitdistanzmessungen von polnahen Sternen zur Bestimmung der sterntäglichen Lotschwankung im Meridian fiel es dem Verfasser auf, dass offensichtlich *das* an einer einzigen zylindrischen Drehachse befestigte *Fernrohr* in seiner Drehungsebene *die* der Lotablenkung sehr nahe gleiche *Neigung der Instrumentenpfeiler* stets nur *zu einem kleinen Teil mitmachte*. Man kann diese merkwürdige Erscheinung dadurch erklären, dass die lediglich auf der Beeinflussung der intramolekularen Kräfte beruhende Lorentz-Kontraktion zwar den Querschnitt der Drehachse und ihrer Lagerstellen deformieren, aber ihm und somit auch dem Fernrohr kein Drehmoment erteilen wird. Infolgedessen wird die optische Achse des Fernrohrs während der Pfeilerneigung ihre Stellung praktisch beibehalten, abgesehen von der relativ geringen Verdrehung wegen der Deformation des Fernrohrquerschnittes[1]. Es lässt sich also diese Pfeilerschwankung bzw. die Lotschwankung beispielsweise so feststellen, dass *in der Nadirstellung des Fernrohrs* mittels des Quecksilberhorizontes fortgesetzt *der Nadirpunkt am Kreis* bzw. am Okularmikrometer *bestimmt wird*. Zwei kurze dementsprechende Beobachtungsreihen, die der Verfasser 1922 probeweise am Vertikalkreis der Sternwarte in Babelsberg, und zwar bei west-östlicher Orientierung des Kreises, wo die Lotschwankung am grössten ist, angestellt hat, ergaben im einfachen Mittel aus Kreis- und Mikrometerablesungen ungefähr $A = 86° \pm 6°$ $D = +46° \pm 9°$, $v = 710 \pm 40$ km/s[2].

11. Eine ähnliche, zehntägige Reihe von *Nadirpunktbestimmungen* wurde dann 1923 am Repsoldschen Meridiankreis der Heidelberger Sternwarte ausgeführt, mit dem Ergebnis, dass die mit den Annahmen $A = 75°$, $D = +40°$, $v = 750$ km/s berechneten Sollwerte der Schwankung völlig bestätigt werden. Dabei ist besonders bemerkenswert, dass die gleichzeitig in der Richtung des Ersten Vertikals vorgenommenen Mikrometerablesungen für den Nadirpunkt, ebenfalls in Bestätigung der Theorie, keine merkliche Veränderung aufweisen, weil hier die durch die Kontraktion eintretende Ablenkung des Meridianfernrohrs fast identisch ist mit der Lotablenkung[2].

12. In der Art einer Nadirbeobachtung ging auch der «*Zweispiegelversuch*»[2] vor sich. Auf einem Festpfeiler war ein Quecksilberhorizont dicht neben einem horizontal gelagerten Planspiegel aufgestellt und über beiden ein Ablesefernrohr in Nadirstellung. Von jedem Faden in der Brennebene dieses Fernrohrs entstanden so zwei Bilder, deren Abstand man mikrometrisch vermessen konnte. Wenn das Quecksilber im Gegensatz zum festen Spiegel der Lorentz-Kontraktion nicht unterliegt, so war es möglich, aus wiederholten Messungen dieses Abstandes die sterntägliche Neigungsschwankung des Pfeilers bzw. die Lotschwankung zu ermitteln. Mehrere vom Verfasser und anderen Beobachtern 1922 und 1923 an entsprechenden Apparaturen

[1] *Die beobachtete Gangschwankung der Quarzuhren und die Lorentz-Kontraktion der Erde*, Astron. Nachr. (noch nicht erschienen).

[2] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther IV*, Astron. Nachr. *237*, 337 (1930); *V*, Astron. Nachr. *249*, 273 (1933).

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926); *III*, Astron. Nachr. *234*, 137 (1929). – *Ableitung der Bahngeschwindigkeit der Erde aus der auf Grund der Lorentz-Kontraktion (Zeigerstabversuch) bestimmten Absolutbewegung*, Astron. Nachr. *247*, 105 (1933). – *Zur Bestimmung der Lorentz-Kontraktion und der «absoluten» Erdbewegung*, Astron. Nachr. *280*, 61 (1951).

[2] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

vorgenommene längere Messungsreihen hatten insofern ein negatives Endresultat, als der gemessene Bildabstand dauernd gleich gross blieb. Man muss daraus den wichtigen Schluss ziehen, dass die *Lorentz-Kontraktion* ganz allgemein nicht nur feste, sondern *auch flüssige molekulare Körper umfasst*, im Einklang mit der LORENTZschen Elektronentheorie und in Bestätigung durch die Beobachtungen der Seen- und Meerespegel, die sonst zum Teil enorme Niveauschwankungen der Meere anzeigen würden. Diese Erscheinung zieht aber sehr überraschende Konsequenzen nach sich[1].

13. Die besprochene Nadirbeobachtung mit einem in seiner Stellung verharrenden Meridianfernrohr lässt sich durch einen «*Lotschwankungsversuch*» mit einem «*Zeigerstab*» ersetzen. An Stelle eines Fernrohres kann man nämlich viel einfacher irgendeinen Metallstab benutzen, der, einem Uhrzeiger gleich, in senkrechter Lage durch einen einzigen Stift an seinem oberen Ende an einem Pfeiler fest angebracht und mittels Gegengewichtes im indifferenten Gleichgewicht gehalten ist. Dieser «Zeigerstab» wird die in der zum Aufhängestift senkrechten, zur Pfeilerwand parallelen Ebene vor sich gehenden Neigungsschwankungen des Pfeilers nur zu einem geringen Teile mitmachen, sein unteres Ende wird daher relativ zum Pfeiler kleine periodische Verschiebungen aufweisen, deren ausgemessene Beträge zu einer Bestimmung der Lotschwankung führen. Im Jahre 1925 wurden vom Verfasser im sehr temperaturkonstanten grossen Uhrenkeller der Babelsberger Sternwarte mit zwei verschieden langen und verschieden montierten Zeigerstäben, bei geeigneter optischer Vergrösserung der Stabbewegungen, mehrere Versuchsreihen angestellt, deren Ergebnisse die Annahmen: $A = 75°$, $D = +40°$ bestätigen, während die Geschwindigkeit wieder kleiner als angenommen, zu rund $v = 400$ km/s herauskommt, was wohl auf eine gewisse Mitführung des Zeigerstabes bzw. technische Unvollkommenheiten der Apparatur zurückzuführen ist[2].

14. Um die Genauigkeit der Ablesungen am Zeigerstab soweit zu steigern, dass sich die *Bahngeschwindigkeit der Erde* bemerkbar machen kann, wurde 1931 ein besonderer *Zeigerstabapparat* gebaut. Auf einer schweren, horizontal gelagerten und in Azimut drehbaren Eisenscheibe ist ein starkes vertikales Stativ aufgeschraubt, das an seinem oberen Ende einen an einem horizontalen Stift befestigten, im indifferenten Gleichgewicht befindlichen Doppelzeigerstab, ebenfalls in senkrechter Stellung, trägt. An dem einen unteren Stabende ist ein Faden angebracht, dessen seitliche Verschiebungen mit einem stark vergrössernden, mit dem Stativ fest verbundenen Ablesemikroskop mikrometrisch gemessen werden können. Der Verfasser hat dann an dem Instrument mehrere grosse Messungsreihen durchgeführt, insbesondere je eine im Herbst 1931 und im Frühjahr 1932, zur Ableitung der Bahngeschwindigkeit der Erde. Aus der ersten ergab sich zunächst: $A = 64° \pm 6°$, $D = +50° \pm 9°$, $v = 367 \pm 29$ km/s, also wiederum, wie vorher, eine Verkleinerung der Amplitude der Pfeilerschwankung. Aus der Differenz der v-Werte für die erste und zweite Reihe folgt weiterhin als mittlere Bahngeschwindigkeit der Erde: $v' = 28{,}7 \pm 5{,}6$ km/s (Sollwert: 30,0 km/s), ein Wert, der auch dann noch gut mit dem wirklichen Betrag übereinstimmt, wenn man berücksichtigt, dass er nur ein Minimum darstellt, weil v tatsächlich merklich grösser sein wird. Zur Kontrolle wurden ausserdem vom Verfasser bis zum Herbst 1932 noch sechs Beobachtungsreihen unter verschiedenen Beobachtungsbedingungen, wie andere Jahreszeit, veränderte azimutale Lage des Instruments, andere Dämpfungseinrichtung für die Erschütterungen des Zeigerstabes usw., angestellt, deren Resultate alle die vorigen bestätigen[1].

15. Ein «Zeigerstab» ist auch die Metallschiene, die als Teil des kleinen, «*Neigungsmesser*» genannten Apparates in horizontaler Lage in ihrer Mitte nur durch einen einzigen kurzen Stift an der Kante einer mit drei Füssen auf einem Pfeiler ebenfalls horizontal ruhenden Stativplatte befestigt ist, längs der sie parallel verläuft. Diese Schiene trägt eine feine Libelle, und zu ihr parallel ist auf der Stativplatte eine zweite, gleiche Libelle gelagert. Bei der periodischen Pfeilerschwankung, welche das Stativ mitmacht, wird nun die Schiene mehr oder weniger in ihrer Lage verharren, und es wird daher möglich sein, aus dem Unterschied der Libellenablesungen diese Schwankung zu bestimmen, während alle aus anderer Ursache stammenden Pfeilerneigungen beide Libellen betreffen, also in der Ablesungsdifferenz eliminiert sind. Zu einem ersten Beobachtungsversuch wurde der «Neigungsmesser» vom Verfasser im Juni 1929 auf dem Festpfeiler des kleinen Uhrenkellers der Sternwarte in Babelsberg aufgestellt, und das Ergebnis seiner zehntägigen Libellenablesungen war: $A = 59° \pm 6°$, $D = +51° \pm 9°$, $v = 468 \pm 36$ km/s. Aus einer späteren, die erste ergänzenden Ablesungsreihe vom September 1933 erhielt er noch: $A = 87° \pm 5°$, $D = +64° \pm 5°$, $v = 577 \pm 26$ km/s. Werden beide Reihen miteinander verbunden, so ergibt sich: $A = 61° \pm 5°$, $D = +55° \pm 7°$, $v = 509 \pm 28$ km/s. Die allgemeinen Annahmen werden also hinreichend bestätigt. Dasselbe folgt aus einer weiteren, kürzeren Beobachtungsreihe vom März bis April 1934[2].

16. Auf Wunsch des Verfassers wurden sodann zur *Kontrolle seiner Messungen* im Geodätischen Institut

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926). – *Ein einfaches astronomisches Beobachtungsverfahren zum erneuten Nachweis der «Lorentz-Kontraktion»* Verh. naturforsch. Ges. Basel *59*, 1 (1948).

[2] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926). – *Ableitung der Bahngeschwindigkeit der Erde aus der auf Grund der Lorentz-Kontraktion (Zeigerstabversuch) bestimmten Absolutbewegung*, Astron. Nachr. *247*, 105 (1933).

[1] *Ableitung der Bahngeschwindigkeit der Erde aus der auf Grund der Lorentz-Kontraktion (Zeigerstabversuch) bestimmten Absolutbewegung*, Astron. Nachr. *247*, 105 (1933).

[2] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther IV*, Astron. Nachr. *237*, 337 (1930). – *Ist die Lorentz-Kontraktion vom Brechungsindex abhängig?*, Z. Phys. *90*, 48 (1934).

der Technischen Hochschule in Hannover von anderen Beobachtern an einem dort verfertigten «*Neigungsmesser*» zwei grosse Ablesungsreihen, im Mai 1934 und im Mai 1935 unternommen. Unter Einführung eines Temperaturkoeffizienten, die sich in dem nicht besonders temperaturkonstanten Beobachtungsraum als nützlich erwies, indem die Pfeilerschwankung dadurch noch klarer zutage trat, ergab die rechnerische Ausgleichung der vereinigten Ablesungsresultate der beiden Beobachtungsreihen: $A = 63° \pm 7°$, $D = +41° \pm 12°$, $v = 628 \pm 71$ km/s, also Werte, die mit den allgemeinen Annahmen ausgezeichnet harmonieren, wobei der normale Betrag von v ausserdem für die technisch exakte Ausführung des «Zeigerstabes» spricht. Die Resultate des Verfassers mit dem «Neigungsmesser» finden dadurch eine völlige Bestätigung[1].

17. Als «Zeigerstäbe» kann man endlich auch die zwei Planspiegel eines *rechtwinkligen Winkelspiegels* bezeichnen, den der Verfasser *vor dem Objektiv des Vertikalkreisfernrohrs* in Babelsberg angebracht hat, wobei die Spiegel nicht fest mit dem Spiegelrahmen verbunden, sondern nur durch je eine dünne Achse in ihrer Mitte an ihm freistehend befestigt waren. Bei geeigneter Beleuchtung der Mikrometerfäden entstanden dann an den Spiegeln bei horizontaler Stellung des Fernrohrs von jedem Horizontalfaden zwei zu ihm symmetrische Reflexe, deren mikrometrisch vermessbarer Abstand ein Mass für den Spiegelwinkel ist. Misst man diesen Abstand in zwei in Azimut um 90° verschiedenen Lagen des Fernrohrs, zum Beispiel im Meridian und im Ersten Vertikal, so kann man aus der Differenz die durch die Lorentz-Kontraktion verursachte Veränderung des Spiegelwinkels berechnen und zum ersten Male aus der von der Erdkontraktion unabhängigen, reinen Wirkung der Lorentz-Kontraktion auf das Instrument diese selbst bestimmen. (Erwähnt sei hier, dass der Verfasser eine noch unerprobte Methode zur Bestimmung der Lorentz-Kontraktion eines Maßstabes angegeben hat, die ebenfalls nur auf den Formveränderungen des Apparates beruht[2].) Wäre aber der Winkelspiegel ein kompakter Körper, so würde, allerdings nur unter der Voraussetzung, dass die scherenden Kräfte bei der Kontraktion mitwirken, kein Effekt bemerkbar sein, weil die Ablenkungen des Lichtstrahles infolge der Lorentz-Kontraktion und nach dem Prinzip des bewegten Spiegels sich gegenseitig gerade aufheben. Entsprechende Versuche mit dieser Form des Winkelspiegels haben dem Verfasser gezeigt, dass dies der Fall ist, dass also die scherenden Kräfte wirksam sind. Mit der obigen Art der Spiegelbefestigung sind dann mehrere grosse Beobachtungsreihen in den Lagen Nord und West des Fernrohrs angestellt worden. Zuerst erhielt der Verfasser aus vorläufigen Messungen im April und Juli 1928: $A = 74° \pm 1°$, $D = +36° \pm 1°$, $v = 496 \pm 10$ km/s. Die Beobachtungen wurden im Frühjahr 1930 wiederholt, mit dem Ergebnis, dass die Annahmen $A = 75°$ $D = +40°$, $v = 400$ km/s bestätigt wurden, der Wert von v also wie bei den meisten Zeigerstabbeobachtungen zu klein herauskam. Von drei anderen Beobachtern zur gleichen Zeit angestellte Messungen stimmten in ihren Resultaten befriedigend mit denen des Verfassers überein. Die Beobachtungen sind später, nach Verbesserung der nicht ganz einwandfreien Spiegelflächen, von fünf Beobachtern, den Verfasser mitgerechnet, im Herbst 1930 wieder aufgenommen worden. Aus zahlreichen Messungsreihen folgen für jeden Beobachter Werte für die Änderung des Spiegelwinkels, die qualitativ mit den theoretischen übereinstimmen, aber im Durchschnitt erheblich unter dem Sollwert liegen, so dass der mittlere Betrag von v sich zu nur $v = 250 \pm 10$ km/s ergibt. Dieses Resultat wird verständlich, wenn man bedenkt, dass hier technische Unvollkommenheiten in der Befestigung der zwei Spiegel in doppeltem Masse die normale Veränderung des Spiegelwinkels verkleinern werden[1].

18. Die nun folgenden *Methoden* der Bestimmung der Lorentz-Kontraktion *sind* insofern *indirekte*, als sie auf der durch die Kontraktion der Erde hervorgerufenen periodischen *Veränderung der Schwerkraft* am Beobachtungsort beruhen, allerdings unter der Voraussetzung, dass die Schwerkraft selbst von der Lorentz-Kontraktion unabhängig ist. So wird bei Eintreten der Kontraktion die *Schwingungsdauer eines Uhrpendels* einesteils wegen der Vergrösserung der Schwerkraft, andernteils aber auch wegen der Verkürzung des Pendels *kleiner* werden. Diese Gangänderung von der Periode eines ganzen und eines halben Sterntages lässt sich aus der *Vergleichung von zwei Pendeluhren*, die in stark verschiedener Phase der Schwankung schwingen, die also in geographischer Länge weit voneinander entfernt sind, bestimmen. Der Verfasser konnte dazu zunächst die Korrektionen des Annapolis-Zeitsignals benutzen, die sich aus den täglichen funkentelegraphischen Aufnahmen dieses Signals am Geodätischen Institut in Potsdam vom September 1921 bis November 1922 ergaben. Die Sterntagsperiode der Uhrgänge geht dabei in eine Jahresperiode dieser Uhrkorrektionen über. Das Resultat der rechnerischen Ausgleichung der Beobachtungen war: $A = 56° \pm 12°$, $D = +26° \pm 16°$, und für v, aus dem ersten periodischen Gliede, mit $D = +40°$: $v = 720 \pm 93$ km/s. Später wurde das Beobachtungsmaterial noch erheblich vergrössert, so dass im ganzen mittels des Annapolis-Signals Uhrvergleichungen Potsdam–Annapolis vom Mai 1921 bis Juni 1924 vorlagen, Potsdam–Ottawa ebenso, Potsdam–Ottawa mittels des Bordeaux–Lafayette-Signals dagegen vom März 1922 bis Juni 1924. Das Gesamtresultat der Ausgleichungen aller dieser Beobachtun-

[1] *Über Beobachtungsreihen zur Kontrolle des Nachweises der Lorentz-Kontraktion mittels Libellen*, Z. Phys. *97*, 655 (1935).

[2] *Zur Bestimmung der Lorentz-Kontraktion und der «absoluten» Erdbewegung*, Astron. Nachr. *280*, 61 (1951).

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther III*, Astron. Nachr. *234*, 137 (1929); *V*, Astron. Nachr. *249*, 273 (1933).

gen, ohne Berücksichtigung der speziellen Beobachtungsverhältnisse (Epochen der Zeitbestimmungen, usw.) lautete dann: $A = 81° \pm 5°$, $D = +34° \pm 5°$, $v = 650 \pm 50$ km/s. Endlich konnte der Verfasser noch eine Fortsetzung der Uhrvergleichungen Potsdam–Annapolis vom Juni 1924 bis März 1927 bearbeiten, mit dem Ergebnis: $A = 114° \pm 9°$, $D = +12° \pm 6°$, $v = 801 \pm 128$ km/s. Da diese Resultate die allgemeinen Annahmen bestätigen, sprechen sie für die Unabhängigkeit der Schwerkraft von der Lorentz-Kontraktion[1].

19. Die sterntägliche Gangschwankung einer *Pendeluhr* muss sich auch aus dauernden *Vergleichungen derselben mit einem Chronometer* nachweisen lassen, da zu erwarten ist, dass das durch eine Feder angetriebene Chronometer von den Schwankungen der Gravitation unabhängig ist, und da die Kontraktion der Unruhe bei horizontaler Lage derselben das Maximum der den Gang des Chronometers beschleunigenden Wirkung dann erreicht, wenn die Gangbeschleunigung der Pendeluhr ein Minimum ist, und umgekehrt, wodurch also die Uhrvergleichung die Gangschwankung der Pendeluhr vermutlich eher noch vergrössert wiedergeben wird. Nach einigen Vorversuchen hat der Verfasser vom 3. bis 10. Oktober 1922 in Babelsberg ein Registrierchronometer siebenmal täglich automatisch mit zwei Pendeluhren verglichen, und ebenso wurden im Geodätischen Institut in Potsdam vom 7. bis 10. und vom 24. bis 28. November 1922 Vergleichungen von zwei Registrierchronometern mit drei Pendeluhren vorgenommen. Die rechnerische Ausgleichung der beobachteten relativen stündlichen Gänge der Chronometer, nur nach dem sterntäglichen Hauptglied der Gangformel für eine Pendeluhr, ergab dann im Mittel aller Uhren: $A = 104° \pm 9°$, und mit $D = +40°$ rund: $v = 600 \pm 53$ km/s, in guter Übereinstimmung mit den bisherigen Werten[2].

20. Eine Folge der Gangschwankung von Pendeluhren wird ferner sein, dass *systematische Fehler in den beobachteten absoluten Rektaszensionen der Fixsterne* in Form einer Welle mit der Rektaszension auftreten, die von der Polhöhe des Beobachtungsortes abhängig ist. Diese Welle kann also an Orten mit starkem Breitenunterschied merklich verschieden ausfallen und dadurch zu einer Bestimmung der Lorentz-Kontraktion führen. Versuchsweise hat deshalb der Verfasser eine dreifache *Vergleichung von in Pulkowa und Kapstadt beobachteten Sternrektaszensionen* mittels der Fundamentalsternkataloge Pulkowa 1905, Cape 1900 I und Cape 1900 II vorgenommen, indem ausser den Hauptsternen auch die sämtlichen gemeinsamen Sterne dieser Kataloge verwendet wurden. Die nach der Rektaszension geordneten, vorzüglich miteinander übereinstimmenden drei Reihen der Rektaszensionsunterschiede lassen einen deutlich ausgesprochenen Gang von nahe $0^s,03$ Amplitude erkennen, der den mit den Annahmen: $A = 75°$, $D = +40°$, $v = 750$ km/s berechneten theoretischen befriedigend bestätigt[1].

21. Die Gravitationsschwankung selbst ist *unmittelbar* durch Messungen an sehr empfindlichen *Gravimetern* festzustellen. Zu diesem Zwecke hat der Verfasser zunächst versuchsweise eine einfache *Federwaage* benützt, das heisst einen in einem senkrechten Stativrohr von etwa 1 m Länge aufgehängten schraubenförmig gewickelten Stahldraht, der unten mit einem Gewicht und einer an ihm angebrachten kleinen Linse belastet war. Mittels dieser Linse konnte in einem Ablesefernrohr die Stellung einer Marke am Stativrohr beobachtet und damit die Hebungen und Senkungen des Gewichts sehr genau gemessen werden. Eine erste Ablesungsreihe an diesem Instrument konnte der Verfasser vom 19. bis 27. November 1923 im kleinen Uhrenkeller der Babelsberger Sternwarte ausführen, und er erhielt, unter Einführung eines empirischen Temperatur- und Feuchtigkeitskoeffizienten, durch Ausgleichung der so verbesserten Gravimeterablesungen nach der Formel für die Gravitationsschwankung: $A = 73° \pm 8°$, $D = +36° \pm 11°$, $v = 686 \pm 81$ km/s. Nachher wurde das Instrument in den grossen Uhrenkeller gebracht, und es wurden die Beobachtungen vom Verfasser in drei Reihen, vom 25. November bis 3. Dezember, vom 3. bis 11. Dezember 1924 und vom 24. Februar bis 7. März 1925 fortgesetzt und in derselben Weise ausgewertet, mit dem allgemeinen Ergebnis: $A = 83° \pm 12°$, $D = +50° \pm 34°$, $v = 673 \pm 165$ km/s[1].

22. Eine für diese Beobachtungen noch geeignetere Form der Federwaage ist die des «*Torsionsgravimeters*». Ein solches wurde 1927 vom Verfasser in der Weise hergestellt, dass jetzt ein etwa 2 m langer schraubenförmig gewickelter Stahldraht, der an einem Pfeiler des grossen Uhrenkellers der Sternwarte Babelsberg aufgehängt war, durch ein Gewicht so weit ausgezogen wurde, dass nun bei Mehrbelastung nicht mehr dessen Senkung, sondern seine Verdrehung als Objekt der Messung in Betracht kam. Dazu war am Gewicht ein kleiner Spiegel vertikal befestigt, dessen Stellung mit Hilfe einer sich in ihm spiegelnden, auf dem Fussboden fest montierten Millimeterskala und eines Ablesefernrohrs genau bestimmt werden konnte. Nach langwierigen Vorversuchen konnten zwischen dem 21. April und dem 10. Juni 1927 vom Verfasser in Zeiten geringen Nullpunktganges etwa hundert Ablesungen des Torsionsgravimeters erhalten werden, deren graphische Ausgleichung vorläufig für $A = 82°$ und für v, mit $D = +40°$: $v = 753$ km/s ergab. Im Laufe der Zeit sind dann vom Verfasser noch sieben grosse Beobachtungsreihen zu verschiedenen Jahreszeiten an dem Instrument erhalten worden, nämlich 1927 und 1928 im ganzen drei, 1930 bis 1932 fünf. Ausserdem hat ein anderer

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926); *II*, Astron. Nachr. *230*, 425 (1927).
[2] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther I*, Astron. Nachr. *226*, 241 (1926).

Beobachter zur Kontrolle im Oktober und November 1928 eine ausgedehnte Ablesungsreihe unternommen, mit dem Einzelresultat: $A = 35° \pm 8°$, $D = +33° \pm 13°$, $v = 563 \pm 89$ km/s. Das Gesamtresultat der vier ersten Reihen von 1927 und 1928 war dabei: $A = 62° \pm 5°$, $D = +32° \pm 8°$, $v = 543 \pm 55$ km/s, dasjenige der vier nächsten Reihen, von 1930 und 1931: $A = 41° + 5°$, $D = +37° \pm 8°$, $v = 770 \pm 50$ km/s. Endlich ist die letzte, längste, 1932 erhaltene Reihe 9 mit der vorigen nach Einführung eines empirischen Temperatur- und Feuchtigkeitskoeffizienten kombiniert worden, und es folgte als Spezialergebnis: $A = 50° \pm 7°$, $D = +45° \pm 18°$, $v = 498 \pm 78$ km/s, das sich aber von den anderen nicht wesentlich unterscheidet[1].

c) *Andere Methoden und «Jährliche Refraktion»*

1. Das *direkteste und wichtigste Verfahren* zur Prüfung der fraglichen Konstanz der relativen Lichtgeschwindigkeit besteht darin, aus fortlaufend *beobachteten Längen der Satelliten des Planeten Jupiter* eventuelle *Schwankungen in der* auf die mittlere Entfernung des Jupiters von der Sonne reduzierten «*Lichtzeit*» zu bestimmen[2]. Steht nämlich der Jupiter in der Richtung der «absoluten» Erdbewegung, so wird nach der Absoluttheorie der Lichtstrahl von ihm die Erde schneller erreichen als bei gleicher Entfernung, aber entgegengesetzter Stellung des Jupiter, weil im ersten Falle die Geschwindigkeit der Erde zur absoluten Lichtgeschwindigkeit hinzukommt, im zweiten von ihr abzuziehen ist. Es würde sich also unmittelbar das Verhältnis v/c, Erdgeschwindigkeit: Lichtgeschwindigkeit, und damit v ergeben. In den Annalen der Sternwarte in Leiden (*16*, 1 und 2, 1928) finden sich die Resultate von zwei Bearbeitungen grosser Beobachtungsreihen der Hauptsatelliten des Jupiter, nämlich erstens der in Johannesburg von 1908 bis 1926, also in anderthalb Jupiterumläufen durchgeführten Verfinsterungsbeobachtungen, und zweitens der am Kap, in Greenwich und Leiden 1913–1924, ebenfalls während eines Jupiterumlaufs erhaltenen photographischen Aufnahmen, in der Form von Restwerten der Satellitenlängen, die bei der Vergleichung mit der neuesten Bahntheorie übrigbleiben. Werden diese Restwerte in Jahresmittel zusammengezogen, und zwar nur für die drei inneren Satelliten, da die Beobachtungen des vierten zu spärlich und unsicher sind, so zeigt sich schon in den graphischen Ausgleichungen dieser Jahresmittel allgemein eine mit dem Jupiterumlauf übereinstimmende, ungefähr zwölfjährige Welle, die durch keine der bisher bekannten Ungleichheiten in den Längen der Satelliten erklärt werden kann und nach Phase und Amplitude nahe der zu erwartenden Schwankung in der Lichtzeit entspricht. Eine strenge rechnerische Ausgleichung der Jahresmittel für jeden der drei Satelliten getrennt, nach einer Sinusformel, liefert schliesslich als einfaches Gesamtmittel aus den beiden Beobachtungsgruppen rund: $A = 126° \pm 10°$, die Amplitude der Lichtschwankung: $6^s{,}2 \pm 0^s{,}8$, oder $v = 885 \pm 100$ km/s, gültig für einen Zielpunkt in der Ekliptik, mit ungefähr $D = +20°$. Es kann also kein Zweifel sein, dass die Lichtzeit von der geozentrischen Stellung des Jupiter abhängt, oder dass die relative Lichtgeschwindigkeit nicht konstant ist.

2. Eine andere Möglichkeit, die «absolute» Erdbewegung auf direktem Wege abzuleiten, ergibt sich aus der *Bestimmung der «säkularen Aberration» des Lichtes*, die ebenfalls eine Folge der Absoluttheorie ist. Die sogenannte Konstante der jährlichen Aberration (Fixsternaberration) ist nämlich nicht einfach gleich dem Verhältnis der Bahngeschwindigkeit der Erde zur «absoluten» Lichtgeschwindigkeit, sondern zur relativen Lichtgeschwindigkeit in der Richtung nach dem betreffenden Fixstern, aus dessen Beobachtung die Aberration gefunden wird. Die Aberrationskonstante ist also mit dem geozentrischen Orte des beobachteten Objektes veränderlich, und zwar wird sie für die Hemisphäre des Himmels, auf welche die Erde zuläuft, kleiner sein als für die andere; der geringe Unterschied ist dann ein Mass für v/c bzw. für die Geschwindigkeit der «absoluten» Erdbewegung. Ein möglichst grosses Material an beobachteten Werten der Aberrationskonstante, die vor allem aus Deklinationsbeobachtungen von über den ganzen Himmel verteilten Sternen, zu einem kleineren Teil aus Radialgeschwindigkeiten einer Gruppe von Sternen erhalten waren, wurde vom Verfasser nach dem vollständigen Ausdruck für die Konstante der jährlichen Aberration, der die säkulare Aberration mit umfasst, einer strengen Ausgleichungsrechnung unterworfen, und es ergab sich als Endresultat: $A = 112° \pm 20°$, $D = +47° \pm 20°$, $v = 600 \pm 305$ km/s. Vereinigt man diesen Wert von v mit dem Betrag $v = 1120 \pm 630$ km/s, der aus einer früheren Untersuchung des Verfassers über die säkulare Aberration an Hand von Material des Internationalen Breitendienstes, mit dem Vertex der zwei Sternströme ($A = 94°$, $D = +12°$) als willkürlich gewähltem Zielpunkt hervorgeht, zu einem Mittel, so folgt rund: $v = 700 \pm 270$ km/s, entsprechend einem Zielpunkt, der etwa bei $A = 108°$, $D = +40°$ liegt. Auch hier ist die Realität der gefundenen grossen «absoluten» Erdbewegung nicht zu bezweifeln[1].

3. Die vom Verfasser seit 1904 auf Grund zahlreicher eigener und anderer astronomischer Beobachtungen immer wieder nachgewiesene *kosmische Erscheinung der «Jährlichen Refraktion»*, das heisst einer nicht nur in der nächsten Nähe der Sonne, sondern weit darüber hinaus *bis in 90° Sonnenabstand* am Polarstern noch deutlich vorhandenen, *messbaren Lichtablenkung*, muss hier als sichere Beobachtungstatsache insofern vorge-

[1] *Bestimmungsversuche der Erdbewegung relativ zum Lichtäther IV.* Astron. Nachr. *237*, 337 (1930); *V*, Astron. Nachr. *249*, 273 (1933).

[2] *Ableitung der «absoluten» Erdbewegung aus beobachteten Längen der Jupitersatelliten*, Astron. Nachr. *239*, 33 (1930).

[1] *Bestimmung der «absoluten» Translation der Erde aus der säkularen Aberration*, Astron. Nachr. *241*, 201 (1931).

Prinzip	Gruppe	A m.F. in °	D m.F. in °	v m.F. in km/s	Bemerkungen
a	1	104 ± 21	+39 ± 27	810 ± 215	
	2	93 ± 7	+27 ± 12	652 ± 71	
	3	73 ± 6	+40	889 ± 93	*D* angenommen
	4	92 ± 12	+44 ± 25	927 ± 200	
	5	60 ± 14	+40	656 ± 157	*D* angenommen
	6	(75)	(+40)	(400)	
b	1	70 ± 11	+40	810 ± 166	*D* angenommen
	2	74 ± 3	+40	587 ± 48	*D* angenommen
	3	61 ± 21	+40	344 ± 124	*D* angenommen
	4	53 ± 5	+40	555 ± 48	*D* angenommen
	5	75	+40	750	
	6	(75)	(+40)	(600)	
	7	75	+40	600	
	8	75	+40	600	
	9	75	+40	400	
	10	(86) ± 6	(+46) ± 9	(710) ± 40	
	11	75	+40	750	
	12	–	–	–	L.-K. einer Flüssigkeit bewiesen
	13	(75)	(+40)	(400)	
	14	(64) ± 6	(+50) ± 9	(367) ± 29	Bahngeschwindigkeit der Erde bestimmt
	15	61 ± 5	+55 ± 7	509 ± 28	
	16	63 ± 7	+41 ± 12	623 ± 71	
	17	75	+40	300 ± 10	
	18	81 ± 5	+34 ± 5	650 ± 50	
	19	104 ± 9	+40	600 ± 53	*D* angenommen
	20	75	+40	750	
	21	(83) ± 12	(+50) ± 34	(673) ± 165	
	22	52 ± 4	+35 ± 6	650 ± 40	
c	1	126 ± 10	–	885 ± 100	
	2	108 ± 20	+40 ± 20	700 ± 270	
	3	–	–	–	Erwähnung der «Jährlichen Refraktion»
Einfaches Mittel der objektiven Werte:		78	+40	650	
Die allgemeinen Annahmen:		75	+40	600	können also beibehalten werden

bracht werden, als sie am Sonnenrand an die Stelle der relativistischen Lichtablenkung im Schwerefeld der Sonne tritt, somit auch ihrerseits die hier gestellte Frage berührt. In einer Abhandlung[1] hat nämlich der Verfasser das mit den Sonnenfinsternisaufnahmen von 1919, 1922 und namentlich 1929 erhaltene zuverlässige Material an gemessenen Lichtablenkungen von Fixsternen einer eingehenden Diskussion unterzogen und durch Ausgleichungsrechnungen zeigen können, dass kein hyperbolischer Lichtablenkungseffekt, weder der relativistische noch der halb so grosse klassische Gravitationseffekt für sich allein den Beobachtungen gerecht wird und dass auch irgendwelche Kombinationen der beiden theoretischen Effekte mit der in ein paar Grad Abstand vom Sonnenrand noch unmittelbar beobachteten und bis dorthin unter verschiedenen Hypothesen extrapolierten, 0″,5 betragenden «Jährlichen Refraktion» nicht in Betracht kommen. Es bleibt nur die Annahme übrig, dass es sich bei der in nächster Nähe der Sonne festgestellten Erscheinung eben um die natürliche Fortsetzung der «Jährlichen Refraktion» bis zum Sonnenrand allein handelt[1].

Zusammenfassung der Resultate: In der Tabelle sind die Resultate der einzelnen Beobachtungsgruppen übersichtlich zusammengestellt, und zwar, wie schon bemerkt, die gefundenen sphärischen Koordinaten A und D des Zielpunktes der «absoluten» Translationsbewegung der Erde und ihre Geschwindigkeit v, mit ihren errechneten mittleren Fehlern. Die Ergebnisse der Beobachtungen des Verfassers, bei denen eine subjektive Beeinflussung möglich war, sind eingeklammert und wurden nicht in die allgemeine Mittelbildung mit einbezogen.

Schlussfolgerung: Die Beantwortung der Frage «relativ» oder «absolut»? kann danach nicht schwer fallen: die Beobachtungstatsachen sprechen für sich! – und der Verfasser hat dem nichts mehr beizufügen.

Summary

After the detection of a remarkable difference of the angles of reflexion and of incidence on "the moved mirror", which for the first time confirmed directly the "absolute-theory", the author began in 1920 his long series of investigations on the "absolute" movement of the earth and the "Lorentz-contraction". Over many years passed a very great number of quite different observations has been collected and discussed, and now all the positive and almost equal results of them for the determined coordinates A and D of the apex and for the velocity v of the great "absolute" movement of translation of the earth have been put together here. These facts will allow the reader to judge for himself the question: "relative" or "absolute"?

[1] *Sonnenfinsternis-Aufnahmen 1919, 1922, 1929 und «Jährliche Refraktion»*, Astron. Nachr. *244*, 279 (1932).

Towards the Elimination of the Fowl Leukosis Complex

By J. G. CARR, Edinburgh[1]

The losses among commercial flocks due to the fowl leukosis complex are enormous and fall as heavily upon the progressive man as well as the less competent. They have been put at $60,000,000 annually in the U.S.A.[2] and are proportionally as great in many other countries. It is the purpose of this account to suggest means whereby this can be reduced, and represents a brief summary of ten year's work upon the tumour viruses of fowls. Though a detailed analysis of the whole problem is not claimed, the findings seem sufficiently advanced for practical measures to be based upon them.

A particular advantage in much of this work was the fact that the Brown Leghorn flock of A. W. GREENWOOD at the Poultry Research Centre was available for the supply of experimental chicks. Since the spontaneous incidence of the condition is extremely low in this flock[3], experiments could be interpreted with some confidence. The fact that most workers had the handicap of extremely high incidences in their test animals is partly responsible for the slow progress and confusing results so typical of this field.

Under the heading of the fowl leukosis complex poultry pathologists include a series of diseases caused by a group of viruses belonging to the neoplasia-inducing series. It is usually taken to include the virus-induced sarcomas (such as the famous Rous I), myeloid and lymphoid leukaemias, erythroleukaemia, neurolymphomatosis (or fowl paralysis) including the ocular form, and osteopetrosis. Not all workers are agreed upon the exact details of the composition of the group, and the disagreement upon this and upon the pathological details can well be measured by the fact that HUNGERFORD in a recent Textbook of Poultry Diseases[4] lists 69 synonyms for the complex in the English language alone. The complex usually shows almost its complete range in each infected flock, but one or more forms may be absent and one or more especially predominate. Such viruses as have been examined experimentally are usually found to be serologically related (e.g. ANDREWES[5]). In addition, DURAN-REYNALS has shown that the classical Rous I[6] can be modified by suitable techniques to give many variants, some of which resemble forms encountered in the field, such as bone tumours and neurotropic forms, while GREENWOOD and CARR[1] produced evidence suggesting frequent mutation of Rous I to a neurolymphomatosis form. The viruses of the leukosis group are therefore either closely related or variants of a single virus, and facts obtained for one form may be extrapolated with some confidence.

Any treatment by radiation, chemotherapy, or surgery is of purely academic importance, for a sick bird is not producing eggs and in most systems of management the expense of individual caging, maintenance and treatment would never be compensated for by the value of the bird, should it be eventually restored to health and laying condition. The only feasible approach to the problem is therefore concerned with elimination of the viruses.

Immunisation against them is unsafe and uncertain. This is perhaps partly due to the fact that the whole life of the virus after infection is intracellular[2]; stages of release from the cell and reinfection do not occur. A single infected cell, which is of negligible importance in most virus diseases, will in this group be sufficient to lead to a progressive and fatal cancer. Since protection against one virus may not guarantee protection against all others[3], a very polyvalent vaccine would in any event be needed, and this might well be more in mere bulk than a newly-hatched chick could possibly tolerate.

Similar reasons may be advanced for the comparative failure of methods depending upon breeding for resistance. Lengthy and exhaustive studies upon this aspect were carried out by several workers in the U.S.A.[4]. Though the disease was reduced by this approach, it was never abolished or even reduced to negligible levels; the improvement would have been worth while commercially, but was only obtained and maintained by careful and expert attention. If more than one virus is concerned, and the cross-resistance is only partial (as with the sarcoma viruses[3]) the problem

[1] Poultry Research Centre, Edinburgh.

[2] U. S. Department of Agriculture (Regional Poultry Research Laboratory, East Lansing, Michigan), 4th ann. Rep. *1943*, 3.

[3] A. W. GREENWOOD and J. S. S. BLYTH, 8th World's Poultry Science Congress, Copenhagen *1948*.

[4] T. HUNGERFORD, *Diseases of Poultry* (Wilkinshaw Co. Sydney,, 1951).

[5] C. H. ANDREWES, J. Path. Bact. *34*, 91 (1931); *35*, 243 (1932); *37*, 17 (1933); *37*, 27 (1933).

[6] F. DURAN-REYNALS, Cancer Res. *2*, 343 (1942); *3*, 569 (1943).

[1] A. W. GREENWOOD and J. G. CARR, 9th World's Poultry Congress, Paris *1951*.

[2] J. G. CARR, Symposium on the Nature of Virus Multiplication (Cambridge University Press, 1953).

[3] C. H. ANDREWES, J. Path. Bact. *34*, 91 (1931); *35*, 243 (1932); *37*, 17 (1933); *37*, 27 (1933). – C. R. AMIES and J. G. CARR, Amer. J. Cancer *35*, 72 (1939). – M. J. A. DES LIGNERIS, Publ. South African Inst. Med. Res. *31*, 1 (1934).

[4] F. B. HUTT and R. K. COLE, Science *106*, 379 (1947). – L. W. TAYLOR, I. M. LERNER, K. B. DEOME, and J. R. BEACH, Poultry Sci. *22*, 339 (1943). – N. F. WATERS, Poultry Sci. *24*, 259 (1945).

becomes very difficult for the geneticist, while if mutation is occurring in resistant hosts, as the work of Duran-Reynals[1] and Greenwood and Carr[2] suggests, it becomes almost impossible.

It is generally agreed that most infections take place in the first eight weeks of the chick's life[3]. There is a curious discrepancy at this point. The laboratory worker finds that injection with cell injury is necessary to produce the disease and that the sarcoma group at any rate do not produce immediate effects if they enter with minimal damage, as was first recognized by Rous and co-workers[4]. It was also first shown by Rous and colleagues that infected and normal fowls can safely run together, and even be fed upon tumour without infection; a fact that our own practice at Edinburgh fully confirms, for no precautions in isolating the experimental birds are taken. Yet it is also quite clear that infection in the field is easy. When birds of the Centre flock, for example, were sent to an area where the disease was extant, and were kept under normal field conditions, a very heavy loss due to the disease was experienced[5]. Clearly, some factor is operating in commercial conditions that is absent in laboratories.

The contention in the present account is that this factor is the parasites of fowls, especially the blood-sucking ectoparasites. The blood of leukaemic fowls may be infective at a dilution of one part in a million, and all subsequent workers agree with Rous and colleagues[4] that the blood of sarcoma-bearing birds contains infective virus. It is therefore to be expected that blood-sucking parasites may transmit the condition, as such parasites must usually precede their meal by injecting a clot-preventing secretion into the host. In 1939, an infection of red mite at the Lister Institute of Preventive Medicine, London, spread Rous sarcomas from the tumour-bearing birds to all normals in a few weeks. The new tumours mostly appeared on the inner aspect of the wing, and were all found to resemble Rous I and to contain a virus of this type. When the mites were cleared away, such unwished transmissions of the tumour also ceased, and were not encountered again. It was not thought necessary to publish these findings since Johnson[6] had reported the transmission of leukosis by red mite two years previously. Little attention has been paid subsequently to this work, however. Perhaps the finding that the closely-related virus condition, rabbit myxomatosis, is mainly spread in epizootic form as a mosquito-borne infection may serve to focus attention of the possibilities of parasitic transmission. Consideration of the field experiments also suggests that some such mechanism is essential to explain the manner in which the disease can spread to flocks with strict contact isolation. Only a flying or bird-carried vector could be responsible. In this connexion it is also interesting to note that the majority of "spontaneous" sarcomas appear to arise in the external musculature (4 out of the original 5 of Rous, for example) and rather often on the wing like the mite-transmitted Rous tumours. The blood cysts, which Blakemore and Innes[1] regard as a related condition are also external rather than internal.

It might seem at first sight that this would not agree with the field reports that infection is mainly restricted to the first eight weeks of the chick's life (e.g. Hutt *et al.*[2]). This is, in fact, a consequence that can be predicted, for it is known that the Rous I virus in a 6-week old bird will induce sufficient antibody to cause neutralization when extracted from the infected cells into the tissue fluids in just over 40 days[3]. If this holds true for the other viruses, and making a slight extension to allow for the lesser antibody production of very young animals, the answer comes out about right.

Since modern insecticides give effective means for combatting the parasites, this mode of transmission should be controlled readily. Since the first eight weeks are the most critical, and in many parts of the world the chicks must be in closed rooms supplied with artificial heat for this period, the control need only be applied to the brooder rooms, making prevention both easier and cheaper.

This, however, was never regarded as sufficient to explain all the incidence and spread of the disease. The second mode of transmission of the complex is regarded as through the egg. This mode is recognized in the laboratory work[4] but has been denied as an effective contribution in the field. The evidence for and against this was summarized by Cole[5]. This valuable account at once shows that the apparent discrepancy does not exist. The evidence usually relates to the offspring of birds which died of leukosis (usually up to 500 days) versus those of the birds which survived up to this age. While the former birds were obviously carriers, it would not be correct to conclude that all survivors are not carriers. Those which would only die after a longer period are ignored. Furthermore, it is known that those fowls which recover from Rous I tumours remain carriers of this virus for life[6], the latent virus being liable to a

[1] F. Duran-Reynals, Cancer Res. *2*, 343 (1942); *3*, 569 (1943).
[2] A. W. Greenwood and J. G. Carr, 9th World's Poultry Science Congress, Paris *1951*.
[3] F. B. Hutt, R. K. Cole, M. Ball, J. H. Bruckner, and A. F. Ball, Poultry Sci. *23*, 396 (1944).
[4] P. Rous, J. B. Murphy, and W. H. J. Tytler, Amer. Med. Ass. *48*, 1751 (1914). – F. Pentimalli, Z. Krebsforsch. *22*, 74 (1924).
[5] J. W. Johnston and J. E. Wilson, Vet. J. *93*, 13 (1937); *95*, 474 (1939).
[6] E. P. Johnston, Poultry Sci. *16*, 225 (1937).

[1] F. Blakemore and J. R. M. Innes, Univ. Cambridge Inst. Animal Path., 2nd Rep. *1931*, 175.
[2] F. B. Hutt, R. K. Cole, M. Ball, J. H. Bruckner, and A. F. Ball, Poultry Sci. *23*, 396 (1944).
[3] J. G. Carr, Brit. J. exp. Path. *24*, 133 (1943).
[4] I. Mitsuo, Trans. Jap. Path. Soc. *18*, 622 (1928). – T. Mio, Jap. Med. World *9*, 121 (1929). – T. Ikeda, Trans. Jap. Path. Soc. *20*, 698 (1930). – F. Oshima and S. Tomazawa, Trans. Jap. Path. Soc. *21*, 792 (1931). – A. W. Greenwood and J. G. Carr, 9th World's Poultry Science Congress, Paris *1951*.
[5] R. K. Cole, Poultry Sci. *28*, 31 (1949).
[6] J. G. Carr, Brit. J. exp. Path. *24*, 138 (1943).

sudden and fatal recrudescence of activity[1]. The blood of fowls bred for resistance to erythroleukosis is also infectious after the bird has resisted an inoculation (Carr, unpublished). Non-appearance of a fatal disease during a short period cannot therefore be regarded as proof that the bird does not carry the virus, especially if there has been some selection for resistance to the virus. Such resistant carriers may be a worse risk than the bird which dies of the infection, and thereby terminates its reproductive career.

Since the blood of carriers may be infective, it seems logical that any blood-spots produced after the yolk detaches from the ovary and which pass into the egg are an obvious risk. Though the larger spots are detected by candling, smaller ones of merely a few thousand cells will be missed. Some confirmation that these suggestions have validity comes from an extension of the work on the egg-transmitted neurolymphomatosis from Rous carriers by Greenwood and Carr already described[2].

The Rous-resistant line had the highest frequency of blood-spots of any of the 8 lines comprising the Edinburgh flock. That blood-spot frequency is inherited was shown by Sharma[3] and confirmed by Lerner *et al*[4]. When this resistant line was outcrossed and reselected for resistance, the frequency of blood-spots and of neurolymphomatosis in the offspring both decreased. Though elimination of blood-spots is very desirable in itself, there is, actually, a more effective control. It was recently shown by Carr[5] that the infectivity of Rous tumours falls off with age of the host, and Duran-Reynals[6] indicated that after about 2 years of age the "spontaneous" sarcomas of fowls are less likely to contain infective material. Therefore, any egg-transmitted infections of these viruses should be primarily a disease of pullet-hatched birds rather than hen-hatched birds. This was at once found to be the case with the Centre flock. The pullet-egg breeding over the last 10 years was only about 10% of the total hatching, but was found responsible for 50% of the cases of fowl paralysis (in the restricted sense). A similar but less marked trend was found for the other forms of the leukosis complex. Owing to the very low spontaneous incidence, and the fact that many birds are kept to an advanced age, it was expected that some of the cases classified under these headings would be non-virus forms resembling leukosis, which are a rarity in commercial flocks. Fowl paralysis is probably almost always a virus-induced condition, so was chosen for analysis. As there is no reason to suppose that the non-virus neoplasms are related to age of parent, their inclusion will reduce the actual age effect. There was no correlation of incidence of leukosis with age of the *male* parent. The low spontaneous incidence and complex breeding programme of the Centre flock make an exact incidence of the relative risk of using pullets versus hens for breeding not easy to deduce, but it is certainly ten times greater, and may well be more.

Some confirmation of this can be seen in going through the literature, for many workers give figures indicating that the birds hatched from hen eggs are less affected than those from the same parents as pullets (e.g. Johnston and Wilson[1]), but most of these experiments are complicated by lack of control of possible parasitic spread.

The investigations are obviously not complete as yet. It is possible that the mechanisms outlined for the transmission of the disease are not the only ones concerned in its spread. Since, however, the problems that this condition raises demand urgent attention, and the measures described here imply little more than good and careful poultry husbandry involving little outlay and no risk, it seemed desirable to publish the results for consideration by other workers in the subject.

All expenses in connexion with this work were borne by the British Empire Cancer Campaign.

Résumé

L'auteur propose des méthodes simples pour lutter contre les pertes énormes dues aux leucoses qui sévissent dans les élevages commerciaux de nombreux pays. Ces leucoses comprennent des leucémies, des sarcomes, des neurolymphomatoses et des ostéopétroses. Elles sont provoquées par un groupe de virus étroitement apparentés.

L'auteur étudie deux modes de propagation:

Le premier, intéressant surtout les poussins, s'effectuerait par l'intermédiaire d'arthropodes parasites. De bonnes conditions d'élevage et l'utilisation des insecticides modernes permettrait d'y remédier.

Le deuxième s'effectue par transmission du virus des poules infectées à leur descendance par l'intermédiaire de l'œuf. Comme le pouvoir infectueux du virus diminue avec l'âge de l'hôte, cette transmission se produit surtout lorsqu'on utilise pour les faire couver des œufs du premier cycle annuel de ponte et est très réduite si les œufs utilisés dans ce but proviennent de cycles plus tardifs.

Etant donné qu'entre les virus l'immunité croisée est incomplète et que le virus reste intracellulaire pendant l'évolution de la maladie, il y a peu de chances que la vaccination soit efficace. La sélection de souches résistantes ne peut pas non plus être complètement efficace, car la résistance croisée est seulement partielle, et aussi parce que les virus semblent être assez facilement capables de produire des mutations chez les hôtes résistants.

[1] J. G. Carr, Brit. J. exp. Path. *23*, 206 (1942).

[2] A. W. Greenwood and J. G. Carr, 9th World's Poultry Science Congress, Paris *1951*.

[3] G. P. Sharma, Proc. Roy. Soc. Edinburgh [B] *63*, 302 (1949).

[4] I. M. Lerner, L. W. Taylor, and D. C. Loury, Poultry Sci. *30*, 748 (1951).

[5] J. G. Carr, Symposium on the Nature of Virus Multiplication (Cambridge University Press, Cambridge, 1953).

[6] F. Duran-Reynals, Cancer Res. *6*, 529 (1946).

[1] J. W. Johnston and J. E. Wilson, Vet. J. *93*, 13 (1937); *95*, 474 (1939).

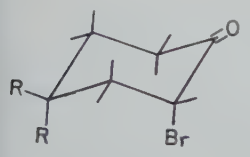
Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

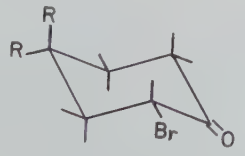
Prediction of the Stereochemistry of α-Brominated Ketosteroids

Previous work[1] has shown that the orientation of bromine in the most stable conformation of a monocyclic α-bromocyclohexanone is sometimes polar and sometimes equatorial. For example, the stable conformation of 2-bromocyclohexanone is that chair form in which the bromine is *polar* (I *A*), while the stable form of 2-bromo-4,4-dimethylcyclohexanone is that chair form in which bromine is *equatorial* (II *B*) (Table I). This dichotomy is due to the fact that both steric and electrical repulsions[2] between ring substituents are important in determining the preferred molecular configuration. When the bromine substituent in an α-bromocyclohexanone is equatorial electrical repulsions are at a maximum and steric repulsions are at a minimum; however, when the bromine is polar the reverse is true.

Thus, when electrical repulsions due to equatorial bromine are much more important than steric repulsions due to polar bromine, the stable molecular configuration will be that in which bromine is polar. This is the situation with 2-bromocyclohexanone, as has been confirmed by calculations[1]. Electrical interaction between the C–O and C–Br dipoles destabilize form I *B* of 2-bromocyclohexanone by at least 2·7 kcal./mole relative to form I *A*, while steric interactions destabilize form I *A* by only *ca.* 0·4 kcal./mole relative to form I *B*. In the case of 2-bromo-4,4-dimethylcyclohexanone, however, the steric interaction in II *A* between polar bromine and a polar, *cis*-methyl group at C_4 completely overshadows the electrical interactions in II *B* involving equatorial bromine and, consequently, the stable form is II *B*.



I *A*, R = H
II *A*, R = CH_3



I *B*, R = H
II *B*, R = CH_3

From a knowledge of the stable molecular configuration of non-rigid α-bromocyclohexanones[3], which is easily obtained by infrared spectroscopy[4], one can evaluate the relative importance of the electrical and steric interactions between substituents in any type of cyclohexane ring systems, rigid or non-rigid. Consequently, the preferred molecular configurations of suitable non-rigid reference systems can be used to derive the preferred configuration at an asymmetric carbon atom in a rigid system.

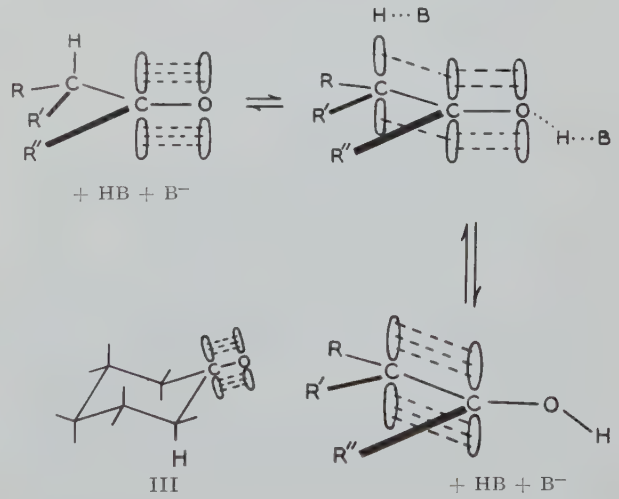
Table I

Relative stabilities of chair-formed conformations of α-bromocyclohexanones

Ketone	Approx. Keq., (Br polar)* / (Br equatorial)
2-bromocyclohexanone-1	> 50
2-bromo-3,3-dimethyl-cyclohexanone-1	> 40
2-bromo-4,4-dimethyl-cyclohexanone-1	< 0·01
2-bromo-6,6-dimethyl-cyclohexanone-1	~ 0·4
7-bromo-spiro[4·5]decane-6-one. . . .	~ 0·4
cis-2,6-dibromocyclohexanone-1 . . .	< 0·05

* In carbon tetrachloride solution at 25°. Data obtained by infrared spectroscopy [ref. 1; E. J. Corey and T. Topie, to be published].

Thus, from the data in Table I on preferred molecular configurations we have deduced the relative stabilities of the epimeric bromination products of any ketosteroid with ketone function in ring *A*, *B* or *C* and *A*/*B* *cis* or trans. The results are recorded in Table II. Since the stable epimer predominates when the product of bromination is *thermodynamically* (*equilibrium*) *controlled*, it is possible by means of these data to *predict* the configuration at $C_{(Br)}$ of any bromoketone thus formed.



III

We also have found a rule, which has a theoretical basis, for predicting the stereochemistry of the *kineti-*

[1] E. J. Corey, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 2301 (1953).

[2] By electrical repulsions we mean the inverse-square field effect associated with the proximity of non-bonded atoms of like net charge; by steric repulsions we mean the inverse-exponential field effect due to interaction between the outer valence-shell electrons of non-bonded atoms.

[3] The term non-rigid is used to mean that both possible chair forms of the cyclohexane ring can exist. A rigid chair-formed six-membered ring is one which is prevented from assuming the other possible chair form.

[4] E. J. Corey, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 2301 (1953). – R. N. Jones, D. A. Ramsay, F. Herling, and K. Dobriner, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 2828 (1952).

Table II
Stability of epimeric α-bromoketosteroids

A/B trans:		*A/B cis:*	
Position of ketone function	Configuration of Br in stable epimer	Position of ketone function	Configuration of Br in stable epimer
C (1)	C (2):α (e)*	C (1)	C (2):β (e)*
C (2)	C (1):α (p) C (3):α (p)	C (2)	C (1):β (p) C (3):β (p)
C (3)	C (2):α (e) C (4):α (e)	C (3)	C (2):β (e) C (4):β (e)
C (4)	C (3):α (p) C (5):α (p)	C (4)	C (3):β (p) C (5):α (p)
C (6)	C (5):α (p) C (7):α (p)	C (6)	C (5):α (p) C (7):β (e)
C (7)	C (6):α (e) C (8):β (p)	C (7)	C (6):α (e) C (8):β (p)
C (11)	C (9):α (p) C (12):α (p)	C (11)	C (9):α (p) C (12):α (p)
C (12)	C (11):α (e)	C (12)	C (11):α

* The isomer with bromine polar should be only slightly less stable, and the equilibrium mixture of C(2) epimers should contain *ca.* 75% of the epimer with bromine equatorial and 25% of the epimer with bromine polar.

cally (*rate*) *controlled* bromination products of ketosteroids. This rule which, as far as we are aware, leads invariably to the correct assignment of configuration is as follows: *the epimer which is formed faster in the bromination of a ketosteroid is always that in which bromine is polar.*

The theoretical basis which we set forth for this rule depends on the recognition of both the enolization of a ketone and the ketonization of an enol as *stereoselective* processes. In general, the energy of the transition state for enolization will be minimized when there is maximum overlap between the $sp^3 \rightarrow p$ orbital made available by the leaving α-hydrogen and the p orpital of the carbonly carbon, as shown[1]. In the case of a chair-formed, six-

[1] Thus, there is a striking parallelism between enolization and β-elimination. β-Elimination proceeds most readily when the four atoms involved in bond-making and bond-breaking are coplanar. [E. D. HUGHES and C. K. INGOLD *et al.*, J. Chem. Soc. *1948*, 2117; D. H. R. BARTON and E. MILLER, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 1066 (1950)]. This stereoselectivity probably is due to the fact that the incipient p orbitals can overlap most effectively in a planar transition state.

Table III

Ketone brominated	Observed and predicted Configuration at $C_{(Br)}$
Cholestanone-3[1]	2α-bromo (*a*, *c*, *t*)
Coprostanone-3[2]	4β-bromo (*a*, *t*)
5α,6β-dibromocholestanone-3[3]	4β-bromo (m.p. 106°) (*b*, *k*, *d*)
5α,6β-dibromocholestanone-3[3]	4α-bromo (m.p. 138°) (*a*, *t*, *d*)
3-acetoxycholestanone-6[4]	5α-bromo (m.p. 162°) (*d*, *k*)
3-acetoxycholestanone-6[4]	7α-bromo (m.p. 145°) (*a*, *c*, *t* or *k*)
3-acetoxycholestanone-6[4]	5α, 7α-dibromo (m. p. 152°) (*b*, *k*, *d*)
3-acetoxycholestanone-6[4]	5α, 7β-dibromo (m. p. 129°) (*a*, *c*, *t*)
3-acetoxycholestanone-7[4]	6β-bromo (m. p. 175°) (*b*, *k*)
3-acetoxycholestanone-7[5]	6α-bromo (m. p. 143°) (*a*, *t*)
Methyl 7-keto-3α,12α-diacetoxycholanate[6]	6α-bromo (*a*, *t*)
Methyl 11-keto-3α-acetoxycholanate[7]	12α-bromo (*a*, *k* or *t*)
Methyl 12-keto-3α-acetoxycholanate[8]	11β-bromo (m. p. 222°) (*b*, *k*)
Methyl 12-keto-3α-acetoxycholanate[8]	11α-bromo (m.p. 182°) (*a*, *t*)

(*a*) Cannot be epimerized. (*b*) Can be epimerized. (*c*) Previously assigned structure incorrect. (*d*) No conclusive assignment of structure previously made. (*k*) Product of kinetic control. (*t*) Product of thermodynamic control.

[1] R. N. JONES, D. A. RAMSAY, F. HERLING, and K. DOBRINER, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 2828 (1952). – See. E. J. COREY, J. Amer. Chem. Soc. In press for proof of this configuration and a correction of the recent article of L. F. FIESER and X. A. DOMINGUEZ, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 1704 (1953).

[2] R. N. JONES, D. A. RAMSAY, F. HERLING, and K. DOBRINER, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 2828 (1952). – L. F. FIESER and R. ETTORE, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 1700 (1953).

[3] A. BUTENANDT and J. SCHMIDT-THOMÉ, Ber. dtsch. chem. Ges. *69*, 882 (1936). – A. BUTENDANDT and G. SCHRAMM, Ber. dtsch. chem. Ges. *69*, 2289 (1936). – H. H. INHOFFEN, Ber. dtsch. chem. Ges. *69*, 1134 (1936). – D. H. R. BARTON and E. MILLER, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 1066 (1950).

[4] I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES, and F. S. SPRING, J. Chem. Soc. *1937*, 801. – I. M. HEILBRON, H. JACKSON, E. R. H. JONES, and F. S. SPRING, J. Chem. Soc. *1938*, 102.

[5] T. BARR, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES, and F. S. SPRING, J. Chem. Soc. *1938*, 334.

[6] W. M. HOEHN and J. LINSK, J. Amer. Chem. Soc. *67*, 312 (1945).

[7] E. BORGSTROM and T. F. GALLAGHER, J. Biol. Chem. *162*, 707 (1946). – V. R. MATTOX, R. B. TURNER, B. F. MCKENZIE, L. L. ENGEL, and E. C. KENDALL, J. Biol. Chem. *173*, 283 (1948).

[8] T. F. GALLAGHER and W. P. LONG, J. Biol. Chem. *162*, 495 (1946).

membered ring such a favored transition state is possible only if the departing α-hydrogen is polar (see III). Consequently, enolization of a cyclohexanone should take place preferentially with a leaving polar hydrogen and, by the principle of microscopic reversibility, the reverse reaction, ketonization, should involve an entering electrophilic species (e.g. $H^{\delta+}$ or $Br^{\delta+}$) which preferentially adopts the polar orientation.

The application of the above considerations to the assignment of configuration of a bromoketosteroid requires knowing only whether it is the product of kinetic or thermodynamic control. This is easily decided by determining whether the bromoketone is or is not subject to epimerization at $C_{(Br)}$ under the influence of hydrogen bromide.

We have found that in every case where the configuration at $C_{(Br)}$ of a bromoketosteroid has been proved, the predicted configuration agrees with that which is observed. Furthermore, we have determined that in all instances where a conflict existed between predicted and reported configurations, the previous assignment has been in error. The correct configurations have been established experimentally[1] by infrared spectroscopy and also by chemical methods in the cases where it appeared conceivable that the infrared method might be equivocal (e.g., for flexible *A*-ring ketones).

Representative examples are cited in Table III.

The approach to the stereochemistry of α-bromoketones in rigid, fused-ring systems which is presented here appears to have utility in the solution of several different types of problems, e.g. the determination of the location of carbonyl functions in steroid and triterpenoid nuclei. It is noteworthy also that one can determine whether or not a given epimer of a steroid bromoketone will be accessible by direct bromination and whether, if it is accessible, equilibrating or non-equilibrating conditions should be used for its preparation.

E. J. Corey

Division of Organic Chemistry, University of Illinois, Urbana, Ill., June 9, 1953.

Zusammenfassung

An Hand der molekularen Konfigurationen geeigneter monozyklischer Vergleichssubstanzen wurde die relative Stabilität aller epimeren Normal- und Allo-Bromoketosteroide mit der Ketogruppe im Ring *A*, *B* oder *C* abgeleitet. In gewissen Bromoketosteroiden liegt das Bromatom vorzugsweise *polar*, in anderen vorzugsweise *äquatorial*. Auf Grund dieser relativen Stabilitäten ist es möglich, die stereochemische Konfiguration am $C_{(Br)}$ in Bromoketosteroiden vorauszusagen, vorausgesetzt, dass das Bromierungsprodukt *thermodynamisch*, das heisst *durch Gleichgewicht, bestimmt* ist.

Erhielt man bei der Bromierung nicht das zu erwartende thermodynamisch bestimmte Produkt, so zeigte es sich, dass das Bromatom immer polar vorlag. Diese Tatsache zusammen mit theoretischen Überlegungen führten zur *Regel des polaren Angriffes* bei der Bromierung eines Steroidenols. Dabei lässt sich das Bromoketon am $C_{(Br)}$ epimerisieren. Das Bromatom orientiert sich offenbar immer polar, sofern das Bromierungsprodukt *kinetisch*, das heisst *durch Geschwindigkeit, bestimmt* ist.

Obige Betrachtungen erlauben, soweit wir bis jetzt ausnahmslos feststellen konnten, die eindeutige Voraussage der Stereochemie der Bromoketosteroide.

[1] E. J. Corey, J. Am. Chem. Soc., in press.

On the Constitution of Reserpine[1]

In our first publication on reserpine, isolated from *Rauwolfia serpentina* Benth[2] some physical and chemical details were mentioned. A more detailed account of the pharmacology of this blood pressure lowering and sedative-hypnotic compound was later given by Bein[3]. At that time, owing to difficulties with combustions, no total formula could be given for reserpine. We also found that the Barger method[4] for the estimation of molecular weights strangely enough gave no reliable results, whereas the usual Rast methods could not be used, because reserpine easily decomposed.

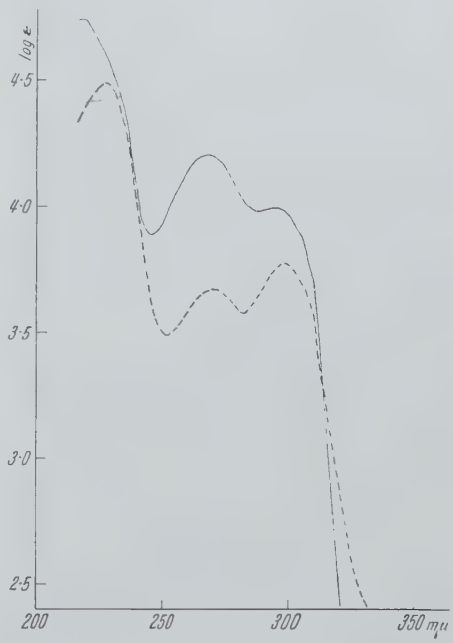


Fig. 1.

Basing on a great number of analyses in our two laboratories we have now come to the conclusion, that reserpine has the formula $C_{33}H_{40}O_9N_2$ (calculated: C = 65·11, H = 6·62, N = 4·60%; found: C = 65·07, H = 6·62, N = 4·64%). With purer samples than mentioned in our first publication, the U.V. and I.R. spectra have been measured again and they are given in Figs. 1 (straight line) and 2, and in the Table. It has been found that reserpine is an esteralkaloid, yielding on alkaline hydrolysis reserpic acid, 3,4,5-trimethoxybenzoic acid and methanol. The latter acid has been identified with an authentic sample.

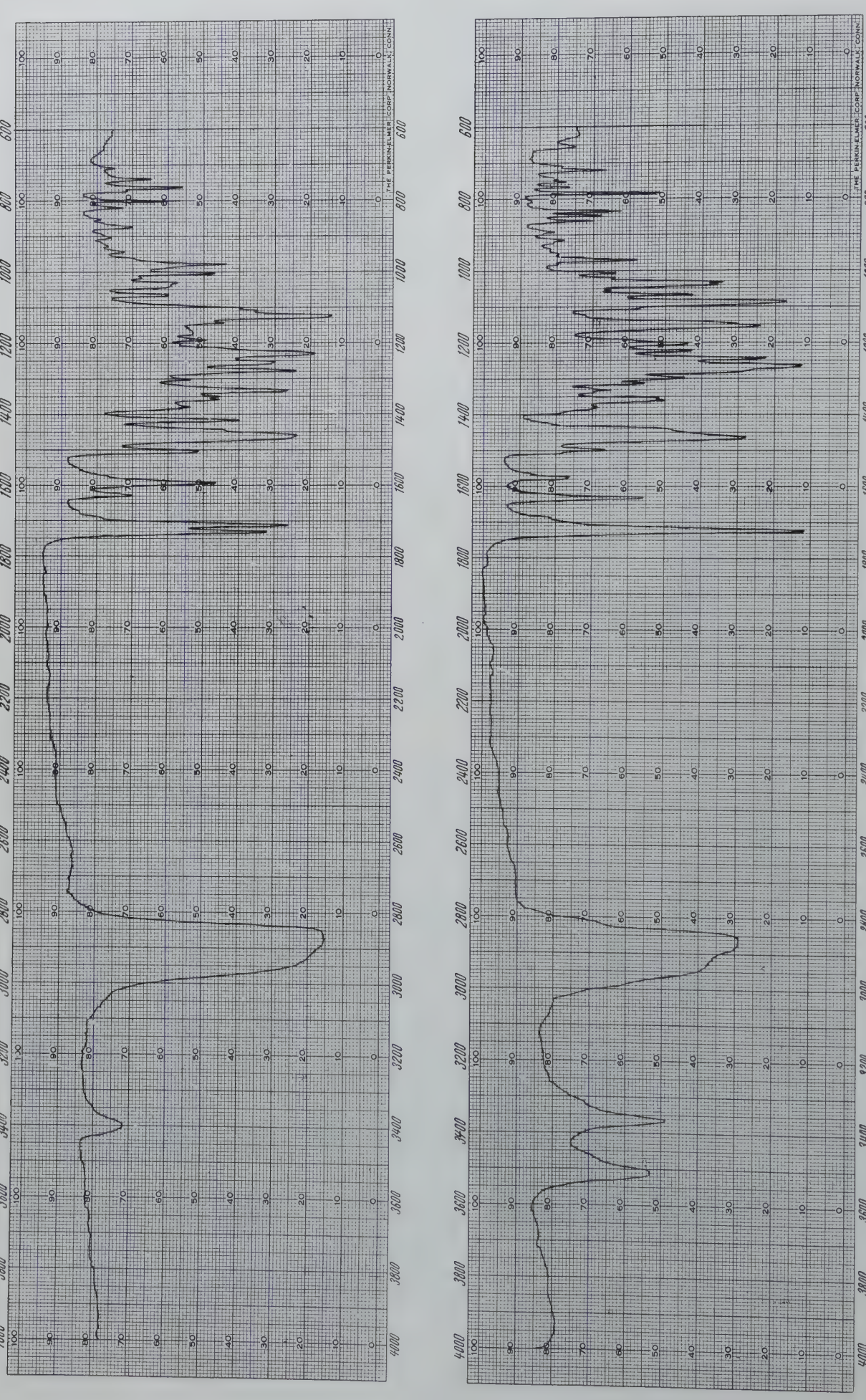
Reserpic acid is usually isolated as its hydrochloride (calculated: N = 6·41, Cl = 8·12), found: N = 6·20, Cl = 8·12%) m.p. 257–263°, $[\alpha]_D = -80 \pm 3°$ ($CHCl_3$) but by treating this compound with Ag_2CO_3 free reserpic acid ($C_{22}H_{28}O_5N_2$) m.p. 239–245° can be prepared (calculated: C = 65·98, H = 7·05, N = 7·00%; found: C = 65·66, H = 7·33, N = 6·98%). Reserpic acid shows strong hydrogen bonding in its I.R. spectrum. On esterifying reserpic acid with diazomethane methylreserpate $C_{23}H_{30}O_5N_2$ (calculated: C = 66·64, H = 7·30,

[1] Ciba's trade-mark for reserpine is "Serpasil".

[2] J. M. Müller, E. Schlittler, and H. J. Bein, Experientia *8*, 338 (1952).

[3] H. J. Bein, Experientia *9*, 107 (1953).

[4] G. Barger, Chem. Ber. *37*, 1754 (1904); J. Chem. Soc. *85*, 286 (1904); *87*, 1756 (1905). – K. Rast, Chem. Ber. *54*, 1979 (1921).



Figs. 2/3.–The I. R. spectra (Figs. 2 and 3) were determined with a Perkin-Elmer Infrared Spectrophotometer Model 21 (NaCl prism, resolution 9·27, response 1–1, suppression 0) using Nujol mulls compensated with Nujol.

N = 6·76%; found: C = 66·68, H = 7·30, N = 6·90%) m.p. 235–239,5°, $[\alpha]_D = -101 \pm 3°$ ($CHCl_3$) is obtained (U.V. Spectrum, Fig. 1 (dotted line); I.R. Spectrum, Fig. 3).

U.V. Spectra in ethanol.

	λ_{max}	log ε	λ_{min}	log ε
Reserpin . . .	218	4·739	246	3·889
	268	4·204	288	3·985
	294–296	3·995		
Methyl Reserpate				
	228	4·488	252	3·493
	270–272	3·667	282	3·579
	298	3·779		

This methylreserpate, which is a basic compound, on being acted upon by trimethoxybenzoylchloride yields the alkaloid reserpine back with the same physical characteristics and identical spectra as the starting material; m.p. 264–266°, mixed m.p. 263–265° (inserted into the block at 250°) (found C = 65·38, H = 6·45, N = 4·80%). Also the pharmacological activity of the synthetic material is the same as the alkaloid obtained from the plant material[1]. This sequence of reactions shows that the molecule of reserpic acid has not suffered from any rearrangements during alkaline hydrolysis and retransformation into the parent alkaloid.

A. Furlenmeier, R. Lucas,
H. B. MacPhillamy,
J. M. Müller, and E. Schlittler

Ciba Pharmaceutical Research Laboratories, Basle, Switzerland, and Summit, N. J., June 3, 1953.

Zusammenfassung

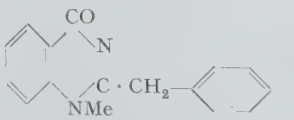
Durch alkalische Hydrolyse wird Reserpin in Reserpinsäure, 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure und Methanol gespalten. Das Esteralkaloid liess sich aus diesen Spaltstücken wieder resynthetisieren.

[1] These experiments were carried out by Dr. A. J. Plummer and his associates.

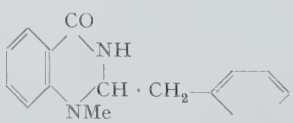
Chemistry of Arborine

In a paper awaiting publication[1] a number of degradations of arborine, $C_{16}H_{14}ON_2$, the major alkaloid of *Glycosmis arborea*[2], has been described in detail. It has been observed that sodalime distillation of arborine affords toluene, methylaniline and ammonia and that hydrolysis of arborine with alkali affords N-methylanthranilamide, N-methylanthranilic acid, phenylacetic acid and ammonia along with a minute quantity of a weakly acidic product, arboricine, $C_{16}H_{13}O_2N$.

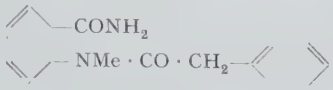
It has now been found that dihydroarborine, $C_{16}H_{16}ON_2$, m.p. 199–200°, is readily hydrolysed with dilute acid. N-methylanthranilamide, N-methylanthranilic acid and phenylacetaldehyde have been isolated from the product. From a consideration of these results and the general behaviour of arborine and dihydroarborine it appears that arborine is 1-methyl-2-benzyl-4(1 H)-quinazolone (I) and that dihydroarborine is (II).



(I)



(II)



(III)

The above structure for arborine has been confirmed by synthesis. For this purpose, phenylacetyl chloride has been condensed with N-methylanthranilamide to give N-methyl-N-phenylacetylanthranilamide (III), m.p. 159–160°. This on heating to 170–190° gives arborine (mixed m.p. compared).

(Mrs.) D. Chakravarti,
R. N. Chakravarti, and
S. C. Chakravarti

Departments of Chemistry, Bethune College and School of Tropical Medicine, Calcutta, April 18, 1953.

Zusammenfassung

Aus den Abbauprodukten von Arborin und Dihydroarborin konnte für Arborin, das Hauptalkaloid von *Glykosmis arborea*, die Formel eines 1-Methyl-2-benzyl-4-(1 H)-chinazolons erschlossen werden. Diese Formel wurde durch Synthese bestätigt.

Isolierung eines neuen kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel

Nebennierenextrakte enthalten ein der Rinde entstammendes kompliziertes Gemisch von Steroiden[1]. Von diesen können drei, nämlich Corticosteron, Cortison und 17-Oxycorticosteron, sicher als Hormone bezeichnet werden, da sie im Blut in Mengen vorkommen[2], die für gewisse natürliche Funktionen der Nebennierenrinde von massgebender Bedeutung sind. Diese drei Stoffe vermögen zwar die Wirkung der Drüse auf den Kohlehydrat- und Proteinstoffwechsel weitgehend zu erklären, nicht jedoch diejenige auf den Mineralstoffwechsel (gemessen an der Na- und Wasser-Retention und K-Exkretion). Von allen bekannten reinen Steroiden besitzt Cortexon (= 11-Desoxycorticosteron) die stärkste Wirkung auf den Mineralstoffwechsel im genannten Sinn. Dieser Stoff kommt zwar in Nebennierenextrakten vor[3] und anscheinend auch im Rinderblut[4]; die darin

[1] J. Chem. Soc., London.

[2] R. N. Chakravarti and S. C. Chakravarti, J. Inst. Chemists (India), *24*, 96 (1952).

[1] T. Reichstein und C. W. Shoppee, *The Hormones of the Adrenal Cortex*, Vitamins and Hormones, Bd. 1, hg. v. R. S. Harris und K. V. Thimann (Academic Press Inc., New York 1943), S. 345.

[2] D. H. Nelson, H. Reich und L. T. Samuels, Science *111*, 578 (1950). – H. Reich, D. H. Nelson und A. Zaffaroni, J. Biol. Chem. *187*, 411 (1950).

[3] T. Reichstein und J. v. Euw, Helv. chim. Acta *21*, 1187 (1938). – Käufliche Extrakte für klinische Zwecke enthalten oft kein Cortexon, da dieses im Fabrikationsprozess entfernt wurde. – A. Zaffaroni und R. B. Burton, J. Biol. Chem. *193*, 749 (1951).

[4] V. Hechter, A. Zaffaroni, R. P. Jacobson, H. Levy, R. W. Jeanloz, V. Schenker und K. S. Pincus, *Recent Progress in Hormone Research*, Bd. 6 (Academic Press Inc., New York 1951), S. 215.

enthaltenen Mengen sind aber zu klein, um die starke Wirkung solcher Extrakte zu erklären. Ausserdem gelang es schon früh aus Nebennierenextrakten Fraktionen zu bereiten, die sicher kein Cortexon enthielten und je Gewichtseinheit stärker wirksam waren als dieses[1]. Die Frage, ob solche Extrakte noch einen neuen unbekannten Stoff mit besonders hoher Aktivität enthalten oder ob die Wirkung durch einen Synergismus zwischen verschiedenen bekannten Stoffen hervorgerufen wird, blieb lange Zeit unentschieden.

Kürzlich ist ein neuer, besonders empfindlicher Test beschrieben worden, der es gestattet, die Änderung im Verhältnis der Na- und K-Ausscheidung im Harn mit sehr kleinen Substanzmengen rasch zu messen[2]. Mit

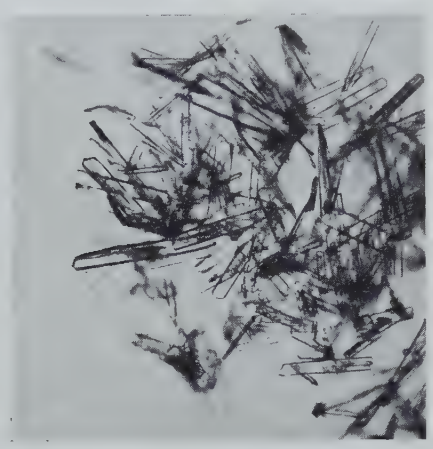


Abb. 1. Neuer Stoff aus Nebennieren, Hydrat, Krist. aus Azeton–Wasser. Vergrösserung rund 50fach. (Wir danken Herrn H. Dürr für diese Aufnahme.)

Hilfe dieses Tests gelang es, eindeutig zu zeigen, dass Nebennierenextrakte tatsächlich einen definierten Stoff mit sehr hoher Aktivität enthalten, der sich papierchromatographisch genau nachweisen liess[3] und auch im Blut vorkommt[4]. Es gelang auch, diesen Stoff sehr weitgehend zu reinigen[5]. Die besten Konzentrate waren im genannten Test etwa 60–80mal stärker wirksam als Cortexon.

Wir haben den Stoff jetzt aus mehreren parallel von unsern beiden Arbeitsgruppen in Basel bearbeiteten Konzentraten präparativ in reiner kristallisierter Form isolieren können. Als Ausgangsmaterial dienten nach der Methode von Cartland und Kuizenga[6] bereitete Extrakte. Für den Hauptversuch wurde ein solcher Extrakt aus 500 kg Rindernebennieren verwendet, wobei die Originalvorschrift aber nur bis zum Ausschütteln mit Äthylendichlorid verfolgt wurde. Das so erhaltene Material (167 g)[1] wurde durch Verteilung zwischen 30%igem Methanol und Petroläther gereinigt[2]. Aus der methanolisch-wässrigen Phase wurde es nach Entfernung des Methanols mit Chloroform–Äther (1:3) ausgeschüttelt und mit verdünnter HCl und $KHCO_3$-Lösung gewaschen. Das so gereinigte Konzentrat (27 g) wurde zuerst auf einer grossen Säule durch Verteilungschromatographie[3] in 140 Fraktionen zerlegt. Ausser vielen der bekannten Corticoide isolierten wir dabei auch einige neue Stoffe. Der gesuchte Stoff liess sich durch Papierchromatographie[4] in den Fraktionen 85–91 lokalisieren, wobei Nr. 85 nur Spuren enthielt. Das verbleibende Material der vereinigten Fraktionen 86–91

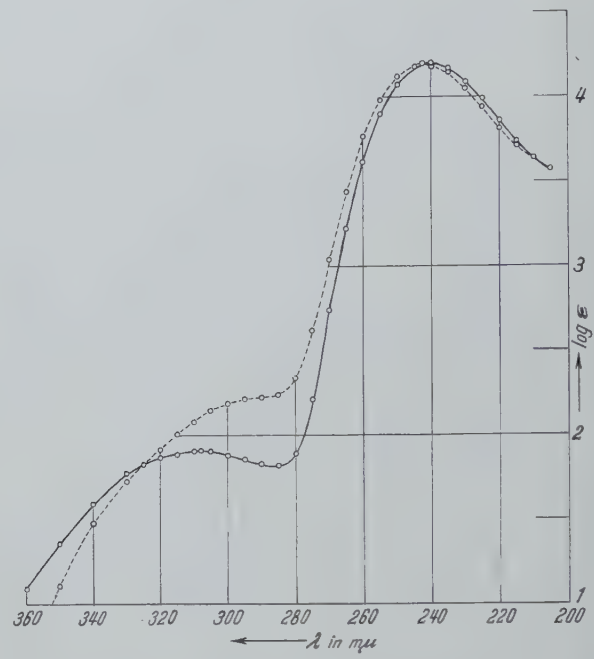


Abb. 2. Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol (aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem «Unicam-Quartz-Spectrophotometer SP. 500»).
o——o Neuer Stoff aus Nebennieren: Maxima bei 240,0 ± 0,25 mμ, log ε = 4,20; 308,0 ± 2 mμ, log ε = 1,92; $c = 9{,}70 \cdot 10^{-4}$, 10^{-5} und 10^{-6} Mol je Liter.
o·····o 17-Oxycorticosteron (zum Vergleich): Maximum bei 242,5 ± 0,25 mμ, log ε = 4,20, Inflexion bei etwa 295 mμ, log ε = etwa 2,22; $c = 2{,}61 \cdot 10^{-3}$, 10^{-4} und 10^{-5} Mol je Liter.

(324 mg) wurde durch nochmalige Verteilungschromatographie auf einer kleinen Säule mit gereinigter Zellulose als Träger unter Verwendung des B_2-Systems von Bush[1] erneut in 57 Fraktionen zerlegt. Zwei kristalline Neben-

[1] J. J. Pfiffner, O. Wintersteiner und H. M. Vars, J. Biol. Chem. *111*, 585 (1935). – O. Wintersteiner und J. J. Pfiffner, J. Biol. Chem. *116*, 291 (1936). – H. L. Mason, Endocrinology *25*, 405 (1939). – E. C. Kendall, J. Amer. Med. Assoc. *116*, 2394 (1941).

[2] S. A. Simpson und J. F. Tait, Endocrinology *50*, 150 (1952).

[3] J. F. Tait, S. A. Simpson und H. M. Grundy, Lancet *262*, 122 (1952). – H. M. Grundy, S. A. Simpson und J. F. Tait, Nature *169*, 795 (1952). – H. M. Grundy, S. A. Simpson, J. F. Tait und W. Woodford, Acta endocrinol. *11*, 199 (1952).

[4] S. A. Simpson, J. F. Tait und I. E. Bush, Lancet *263*, 226 (1952).

[5] S. A. Simpson und J. F. Tait, Memoirs of the Society for Endocrinology, Memoir Nr. 2 (im Druck).

[6] G. F. Cartland und M. H. Kuizenga, J. Biol. Chem. *116*, 57 (1936).

[1] Dieses Gewicht ist viel höher als dasjenige, das Cartland und Kuizenga für diese Stufe angeben. Gewichte von solchen Rohfraktionen schwanken aber stark je nach Qualität des Drüsenmaterials.

[2] T. Reichstein, Helv. chim. Acta *19*, 1107 (1936).

[3] Es wurde genau das von H. Hegedüs, Ch. Tamm und T. Reichstein, Helv. chim. Acta *36*, 357 (1953), beschriebene Ausführungsverfahren benutzt, unter Verwendung von Säule Nr. 4 mit gereinigtem Kieselgur als Träger, Wasser als stationärer Phase und Petroläther-Benzol, dann reinem Benzol als mobiler Phase. Dauer insgesamt 70 Tage. Diese Säule gibt praktisch keinen Blindwert; die Trennung ist ausgezeichnet.

[4] Als Kriterium für die Identifizierung dienten: die Wanderungsgeschwindigkeiten im System Propylenglycol-Toluol [A. Zaffaroni, R. B. Burton und E. H. Keutmann, Science *111*, 6 (1950); J. Biol. Chem. *188*, 763 (1951)] sowie in den Systemen B_5 und C von Bush[5], das Reduktionsvermögen, die UV.-Absorption, die gelbe Fluoreszenz mit wässrig-methanolischer NaOH und das Ausbleiben von Farbreaktion mit H_3PO_4 und $SbCl_3$ [R. Neher und A. Wettstein, Helv. chim. Acta *34*, 2278 (1951)].

produkte wurden erhalten. Der gesuchte Stoff befand sich zur Hauptsache in den Fraktionen 32–39, die aus Azeton–Äther kristallisierten; Spuren liessen sich noch in den Fraktionen 31 und 40 nachweisen. Die Ausbeute an Rohkristallen betrug 22 mg. Umkristallisieren lieferte 21,2 mg farbloses, einheitliches, aschefreies Material. Aus Azeton–Wasser wurden besonders gut ausgebildete Kristalle erhalten (vgl. Abb. 1). Die lufttrockenen Kristalle enthielten Kristallwasser, denn bei längerem Trocknen bei 0,01 Torr und 50° über P_2O_5 wurde 1 Mol H_2O abgegeben. Das Hydrat schmolz auf dem Kofler-Block je nach Kristall-grösse und Erhitzungsgeschwindigkeit im Bereich zwischen 104 und 112° innerhalb etwa 3°. Die Masse kristallisierte bei weiterem langsamem Erwärmen wieder vollständig und schmolz dann bei etwa 153–158° definitiv. (Die letzten Spuren verschwanden oft erst bei rund 165°). Die spezifische Drehung des Hydrats betrug $[\alpha]_D^{23} = +145° \pm 2°$ (c = 0,9896 in Azeton), das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Abb. 2) zeigte die für α,β-ungesättigte Ketone typische Bande.

Die beschriebene Verbindung war im Test nach Simpson und Tait[2] rund 100mal und in dem von Desaulles und Schuler modifizierten Natriumretentionstest nach Kagawa *et al.*[3] etwa 50mal stärker wirksam als Cortexon. Im Erhaltungstest am nebennierenlosen Hund erwies sie sich als mindestens 30mal wirksamer als Cortexon-*azetat*[4]. Die Ergebnisse der beiden zuletzt erwähnten Versuchsanordnungen sprechen dafür, dass sich die Wirkungen der Verbindung auch in qualitativer Hinsicht von denjenigen des Cortexon unterscheiden. Wir glauben daher, dass ein neues wichtiges Hormon der Nebennierenrinde vorliegt. Über die Versuche zur Konstitutionsermittlung und Synthese wird später berichtet, ebenso über eingehendere biologische Versuche. Wir behalten uns vor, für die Verbindung dann einen neuen Trivialnamen vorzuschlagen.

Wir danken Herrn Prof. E. C. Dodds aufrichtig für sein Interesse an dieser Arbeit und die Förderung des Kontaktes zwischen den Arbeitsgruppen in London und in Basel. Der N. V. Organon Oss, Holland, danken wir auch hier bestens für die Überlassung von Nebennierenextrakten.

S. A. Simpson, J. F. Tait,
A. Wettstein, R. Neher,
J. v. Euw und T. Reichstein.

The Middlesex Hospital Medical School, London W. 1; Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, Pharmazeutische Abteilung, und Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel, den 23. Juli 1953.

[1] I. E. Bush, Biochem. J. *50*, 370 (1952). – Diese Säule mussten wir sehr gründlich vorreinigen und die Lösungsmittel jeden Tag frisch destillieren, trotzdem verblieb ein merklicher Blindwert (Autoxydation des Toluols?).

[2] S. A. Simpson und J. F. Tait, Endocrinology *50*, 150 (1952).

[3] C. M. Kagawa, E. G. Shipley und R. K. Meyer, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *80*, 281 (1952). Wir danken den Herren Dr. P. Desaulles und Prof. W. Schuler auch hier bestens für die Ausführung dieser Bestimmung, bei der zusätzlich die Wasserretention sowie die Veränderung der Kaliumausscheidung gemessen wurde[5].

[4] G. A. Harrop, J. J. Pfiffner, A. Weinstein und W. W. Swingle, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *29*, 449 (1932). – J. J. Pfiffner, W. W. Swingle und H. M. Vars, J. Biol. Chem. *104*, 701 (1934). – R. Meier, H. Gysel und R. Müller, Schweiz. Med. Wschr. *74*, 93 (1944). – F. Gross und R. Meier, Schweiz. Med. Wschr. *81*, 1013 (1951). – Herrn Dr. F. Gross sei auch hier bestens für diese Bestimmung gedankt[5].

[5] Die genannten Herren werden über ihre Versuche an anderer Stelle ausführlicher berichten.

Summary

A new crystalline compound has been isolated from beef adrenal extracts. In three different assay methods using epinephrectomised rats or dogs it was found to be from 30 to 100 times as potent as cortexone (11-deoxycorticosterone) or its acetate.

The Gram-Staining Behavior of Spermatozoa

One of the earliest observations on the gram-staining of spermatozoa was made by Ernst[1] who noticed that the heads of spermatozoa stain grampositively. Five decades later, in 1944, Hotchkiss[2] recommends "that the smear be flamed" prior to the use of gram-stain. Then he adds, "some of the spermatozoa take the gram-positive and some the gram-negative reaction". Finally, he says "the interpretation of this reaction is unknown to the author". This inconclusiveness led us to re-examine the gram-staining behavior of spermatozoa.

Materials and Methods

Smears.—Samples of human semen 15 min old and thus liquefied[3] were used, and the smears made according to the method of Hotchkiss[2].

Fixation.—Either air drying, flame fixation or an immersion for 2 min in a mixture of formalin[4] and ethyl alcohol (95%) 1:9 was used. After fixation by any of these methods the slides were kept in ethyl alcohol (80%) prior to staining. (The immersion in 80% ethyl alcohol should not exceed 1 or 2 h).

Gram-Stain.—This was made up according to Roulet[5]. The "mordant" was prepared by dissolving 1 g iodine[6] in 100 ml of ethyl alcohol (80%). As decolorizer ethyl alcohol (95%) was used.

Gram-Staining Procedure.—The slides kept in ethyl alcohol (80%) were transferred for a few seconds to a 70% ethyl alcohol solution, then to one of 50% concentration, and finally to tap water. They were then immersed in the gentian violet solution for 2 min. After rinsing three times in tap water (fresh changes each time) the slides were immersed for one second in ethyl alcohol (50%) and then in the "mordant" for 30 s. After rinsing by 1 s immersions successively in 3 Coplin jars containing ethyl alcohol (80%), the slides were kept 2 min in ethyl alcohol (95%) in order to be decolorized and then rinsed in absolute alcohol for a few seconds and dried before proceeding with microscopic examination.

Other Treatments Prior to Gram-Staining.—Fixed slides were rinsed successively in 80%, 70%, 50% alcohol, then in tap water for a few seconds and finally, kept in 0·5% aqueous picric acid solution for 20 h at room temperature. Some of these slides were treated with Gram's gentian violet solution for 23 h. Control slides were kept in alcohol (80%) during the time of treatment, i.e., after fixation and prior to the application of gram-stain.

[1] P. Ernst, Arch. mikroskop. Anat. *47*, 669 (1896).

[2] R. S. Hotchkiss, *Fertility in Man* (Lippincott, Philadelphia, 1944).

[3] J. MacLeod, Ann. N. Y. Acad. Sci. *54*, 796 (1952).

[4] From Ingram & Bell Ltd: pH = 4·5; strength = 39 to 40%.

[5] F. Roulet, *Methoden der pathologischen Histologie* (Springer, Wien 1948), p. 480. – With gentian violet of the Ciba Company Ltd.

[6] There is no reason to add potassium iodide since iodine is quite soluble in ethyl alcohol (80%) without the presence of KI. An aqueous solution of iodine is impractical for several reasons: KI must be present to render the iodine soluble, the watery solution causes a dissociation of tissues and the penetration of iodine into the tissues is slower.

Results

The gram-staining response of spermatozoa depends on the fixation method or other treatments used prior to the staining procedure. Thus, air drying of the slides from 6 min to 1 h with or without additional flame fixation leads to gram-negativeness. On the other hand, fixation for 2 min in formaldehydealcohol prior to staining gives a gram-positive response. Slides thus fixed and then kept in 0·5% picric acid solution for 20 h are converted to gram-negativeness again when exposed to the gram-staining procedure. Such slides, however, if kept in Gram's gentian violet solution for 23 h prior to the regular gram-staining are reversed to gram-positiveness again.

The gram-positive reaction of spermatozoa seems to be concentrated at the base of the head and neck.

Discussion

The results obtained show that oxidizing agents or acids (air drying, picric acid (0·5%) if applied prior to staining lead to a gram-negative response of the spermatozoa while reducing agents have an opposite influence.

In previous articles[1] it was established that intact wool which shows a gram-negative behavior can be reversed to a gram-positive one by reducing or alkaline agents and then reconverted again by means of oxidizing agents or acids to its original gram-negativeness. The behavior of such fibrous proteins showing an α-keratin structure was described by the authors to be analogous to that of the cytoplasmic *membrane* of gram-negative bacteria and gram-positive bacteria respectively.

It can be shown that the gram-staining response is a characteristic phenomenon of keratin structures in histological specimens[2]. The gram-positiveness observed seems to be associated with the presence of SH groups either in the pre-formative keratin state in the hair follicle or in the more matured (degraded) keratin parts of hair. Gram-negativeness, on the other hand, is apparently associated with the presence of –S–S– groups from the cystine in intact keratins.

However, the reduction-oxidation-scheme mentioned above[3] is not applicable to the keratin in epidermal tissue sections, the gram-positiveness of which cannot be reversed[4]. That scheme is valid only for keratins present in alkali-degraded wools, matured hair and nails. Since according to Block[5] the cystine content of the epidermal keratin is only 3·5 g (per 16 g of N) and that of hair and nails 16 and 13 respectively, we conclude tentatively that the reversibility of the gram-positiveness is characteristic of keratins with high cystine content and that keratins with a low cystine content fail to show this reversibility in behavior.

Electromicroscopic studies of Schnall[6] revealed recently a membrane sheath located at the lower part of the head and neck of the spermatozoa. Danielli[7] describes that area as being constituted of protein. Indeed the presence of basic nuclear proteins was confirmed throughout the whole of the head of ram spermatotoa[1] but the general protein reaction was found to be concentrated near the base of the head. Since our results also show mainly the same area to react like certain keratins after exposure to the gram-staining procedure, we assume the structure to be that of a keratin. The high sulphur content of spermatozoa[2] is further supporting evidence for our assumption since keratins with a reversible gram-staining response have as one of their characteristics a relatively high percentage of sulphur.

The gram-staining behavior of the membrane sheath of spermatozoa does not depend only upon treatment prior to the gram-staining procedure. Seminal fluid which has a pH of 7·4 to 7·6[3], gets more and more alkaline on standing since more and more CO_2 is lost from the sample. Therefore, it is to be expected that the older the sample, the more the alkalinity developed renders the keratin membrane of the head of the spermatozoa gram-positive. The results are also at variance if the spermatozoa are collected from the introitus vaginae, since this acidic milieu (up to pH 3·5) may render them gram-negative or, if the seminal sample is taken from the cervical part (pH 9·6) where the alkalinity might render the spermatozoa gram-positive.

It should be noted that fibrous keratin exposed to alkalinity for a sufficient length of time has a lowered tensile strength and exhibits a marked susceptibility to proteolytic enzymes[4]. The presence of such a degraded keratin in the lower part of the head and in the neck of the spermatozoa as the result of the influence of cervical alkalinity, may facilitate the loss of the tail from the head after fertilization of the ovum.

Acknowledgements. The author wishes to express his sincere gratitude for the invaluable discussions and advice of Dr. P. Larose, National Research Council of Canada, Ottawa, and the encouragement and helpful interest of Dr. M. B. Mackenzie, Reddy Memorial Hospital, Montreal.

R. Fischer[5]

Department of Pathology, Reddy Memorial Hospital, Westmount, Montreal, Canada, March 3, 1953.

Zusammenfassung

Der Einfluss der Vorbehandlung auf das Gramfärbeverhalten menschlicher Spermatozoen wurde untersucht. Die Membranhülle des Spermienkopfes sowie auch die Fibrillen des Halses weisen ein für bestimmte Keratine charakteristisches färberisches Verhalten auf. Vorbehandlung mit Reduktionsmitteln lässt eine Grampositive, Vorbehandlung mit Oxydationsmitteln eine Gram-negative Färbung resultieren. Einige aus diesem Verhalten sich ergebende Möglichkeiten werden diskutiert.

[1] R. Fischer and P. Larose, Can. J. Med. Sci. *30*, 86 (1952). – P. Larose and R. Fischer, Schw. Z. Path. Bakt. *16*, 97 (1953). – R. Fischer, Exper. *9*, 20 (1953). – R. Fischer and P. Larose, J. Bact. *64*, 435 (1952). – P. Larose and R. Fischer, Research, London *5*, 419 (1952); Science *117*, 449 (1953).

[2] P. Ernst, Arch. mikroskop. Anat. *47*, 669 (1896). – R. Fischer, Exper. *9*, 20 (1953).

[3] R. Fischer and P. Larose, Can. J. Med. Sci. *30*, 86 (1952); J. Bact. *64*, 435 (1952). – M. H. G. Friedländer and M. H. Fraser, Exptl. Cell Res. *3*, 462 (1952).

[4] R. Fischer, Exper. *9*, 20 (1953).

[5] R. J. Block, J. Soc. Cosmet. Chem. *2*, 235 (1951).

[6] Schnall and D. Meyer, Fertility and Sterility *3*, 62 (1952).

[7] J. F. Danielli, Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. *14*, 52 (1949).

[1] M. H. G. Friedländer and M. H. Fraser, Exptl. Cell Res. *3*, 462 (1952).

[2] R. S. Hotchkiss, *Fertility in Man* (Lippincott, Philadelphia, 1944). – M. H. G. Friedländer and M. H. Fraser, Exptl. Cell Res. *3*, 462 (1952).

[3] R. S. Hotchkiss, *Fertility in Man* (Lippincott, Philadelphia, 1944).

[4] R. Fischer, S. Seidenberg, and U. P. Weis, Helv. chim. Acta, *32*, 8 (1949).

[5] Present address: Regina General Hospital, Munroe Wing, Research Laboratory, Regina, Sask., Canada.

Number and Behaviour of Chromosomes in *Aphiochaeta xanthina* Speiser

The study of chromosomes in *Diptera* offers several interests, also because of the variety of processes observed during spermatogenesis. The most important cases can be summarized as follows:

(1) Meiosis with chiasmata (Culicinae[1], some other *Nematocera*, as e.g. *Dicranomyia*, *Tendipes*[2], etc.);

(2) meiosis with pairing, but completely devoid of chiasmata (*Penthetria*, etc.[2], *Phryne*[3]), or with chiasmata only in sex chromosomes (*Drosophila melanogaster*[4]);

(3) meiosis without pairing, or with pairing without chiasmata restricted to small segments (*Melophagus*[5] and other parasitic forms).

Fig. 1.—Metaphase plate of gangliar cell (enlargement 1200:1).

It may be added that for *Phryne fenestralis*[6] we know that lack of chiasmata corresponds to lack of crossing-over: a similar correspondence fails to be so clear in the male of *D. melanogaster*[7]. The present investigation on the chromosomes of *Aphiochaeta xanthina* Sp. (Phoridae) is justified by the ease with which this species can be kept in culture and submitted to genetical research[8]. Meiosis of *Aphiochaeta* has been previously investigated by TOKUNAGA[9], who found 5 chromosomes in the diploid cells. This counting is not supported by the present investigation. Nevertheless, we do not dispute TOKUNAGA's results, because it is uncertain whether the material studied by us and by TOKUNAGA belongs to the same species.

Our observations are based on smears, stained both with aceto-carmine and with acetic orcein, and deal with the mitosis of gangliar and gonial cells in both sexes, and with the male meiosis.

(1) Somatic mitosis has been studied in larval ganglia, recording separately the males and females, owing to the differences (size, etc.) between sexes.

The metaphase shows 10 telomitic elements of uniform length (about μ 4–5) (Fig. 1). They have a strong terminal attraction, thus forming V-shaped groups, where the attracting ends are often evidently crossed or slightly separated (Fig. 2). Exceptionally, the metaphase chromosomes can be overcontracted, always 10 in number, and without somatic pairing (Fig. 3). The telophases are sometimes so clear as to show that the number of elements assembling at each pole is 10. Between male and female cells, no difference in chromosome number or shape can be detected.

Fig. 2.—Metaphase plate of gangliar cell (enlargement 1200:1).

The chromatin of the resting nucleus is filamentous, and does not show any heteropycnotic mass. A nucleolus

Fig. 3.—Prometaphase of gangliar cell: overcontracted chromosomes (enlargement 1200:1).

is often visible. The gonial mitoses show the same phaenomena as the gangliar nuclei.

(2) Meiosis. Leptotene and zygotene do not show any interesting features. Pachytene, on the contrary, is peculiar for its clearness: five great filaments are present, with chromomeres generally not easily distinguishable.

Fig. 4.—Pachytene (enlargement 1200:1).

In some portions, not localized, the pairing is incomplete (Figs. 4, 5). No heteropycnotic mass is visible.

Fig. 5.—One element of pachytene (enlargement 1200:1).

[1] H. G. CALLAN and G. MONTALENTI, J. Gen. *48*, 119 (1947).
[2] E. B. WOLFF, Chromosoma *2*, 192 (1941).
[3] E. B. WOLFF, Chromosoma *4*, 148 (1950).
[4] C. D. DARLINGTON, Genetics *19*, 95 (1934). – K. COOPER, J. Morph. *84*, 81 (1949).
[5] K. COOPER, J. Morph. *84*, 81 (1949).
[6] K. COOPER, Proc. Nat. Acad. Sci. *27*, 109 (1941).
[7] H. BAUER, Biol. Zbl. *65*, 108 (1946).
[8] C. BARIGOZZI and L. SEMENZA, Amer. Nat. *000*, 123 (1952). – L. SEMENZA, Rend. Ist. Lomb. Sci. Lett. (in press).
[9] C. TOKUNAGA, Jap. J. Genet. Sup. Vol. *2*, 69 (1949); Jap. J. Genet. *24*, 128 (1949); D. I. S. *24*, 79 (1950).

The diplotene is typical, and all gemini show some chiasmata, which, at the end of the stage, appear fully terminalized. Figure 6 shows an intermediate stage, where terminalization is already strong.

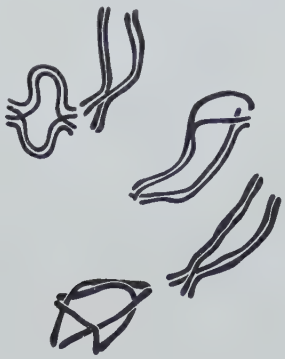


Fig. 6.—Diplotene (enlargement 1200:1).

The micrograph of Figure 7 presents a diakinesis with 5 gemini: all extremities are still in contact. Only in one body at the right, a chiasma is visible.

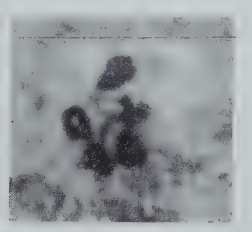


Fig. 7.—Late dyakinese (micrograph; enlargement 1500:1).

After the diakinesis, a strong contraction takes place which transforms each geminus into an oval body. The second division is characterized by 5 V-shaped elements, because the sister chromatids are still linked by means of the undivided centromere, which is located at the end of each chromosome (Fig. 8).

Fig. 8.—II Division: metaphase (enlargement 1200:1).

From these observations the following conclusions are justified:

(1) The diploid chromosome number is 10, the haploid being 5. All V-shaped bodies observed during the diploid mitoses must be interpreted as produced by a terminal synapsis between homologous chromosomes.

(2) All chromosomes are telomitic, and no difference among pairs can be observed. No sex chromosomes are distinguishable. Pairing is normal, and chiasmata occur at diplotene, which terminalize during diakinesis.

(3) The division of centromeres, in all studied cases, occurs in the second division.

(4) No heteropyknotic chromatin has been detected.

From all these facts, the chromosome phenomena during meiosis make it possible to ascribe *Aphiochaeta xanthina* to such *Diptera* as Culicinae and some other *Nematocera* whose meiosis is normal, comprising pairing and chiasmata. This leads us to expect normal disjunction and crossing-over.

The number of chromosomes determined in this material does not agree—as already remarked—with that found by Tokunaga, but we do not know whether the species *Aphiochaeta xanthina* was studied in his experiments.

C. Barigozzi and L. Petrella

Institute of Genetics, University of Milan, May 15, 1953.

Riassunto

Gli autori descrivono i fenomeni cromosomici durante la mitosi e la meiosi maschile di *Aphiochaeta xanthina* Sp., e dimostrano che il numero aploide è 5. La meiosi maschile mostra appaiamento pachitenico e chiasmi al diplotene.

Non si sono notati cromosomi eterocromatici.

Die Beeinflussbarkeit sekundärer Geschlechtsmerkmale von *Oniscus asellus* durch die Gonaden

Die starke Abhängigkeit der sekundären Geschlechtsmerkmale von den Gonaden bzw. von deren Hormonen ist für die meisten Wirbeltiere eine seit langem gesicherte Tatsache. Bei den Wirbellosen, und speziell bei den Arthropoden, liegen die Dinge hingegen wesentlich anders[1]. Hier sprechen die vorliegenden Befunde entweder (Insekten) für eine von der Gonade weitgehend unabhängige Differenzierung dieser Merkmale, oder es liegen (andere Arthropodengruppen) noch so gut wie keine eindeutigen Ergebnisse vor. Die wenigen in dieser Richtung an Crustaceen durchgeführten Arbeiten blieben meist erfolglos[2] oder erlaubten doch keine sicheren Schlüsse[3]. Lediglich Charniaux[4] gelang es kürzlich, zu zeigen, dass die normale Ausbildung der Oostegiten-Randbeborstung reifer ♀♀ von *Orchestia gammarella* offensichtlich in Abhängigkeit vom Ovar erfolgt.

Da eingehende genetische Untersuchungen über den Geschlechtsbestimmungsmodus der Landasseln[5] nun gezeigt hatten, dass gerade bei dieser Gruppe eine auffallende Heterogenität und zum Teil auch Labilität in der Geschlechtsdifferenzierung besteht, lag es nahe, Vertreter gerade dieser Krebse für operativ-experimentelle Untersuchungen heranzuziehen. Es wurde daher bei der Mauerassel *Oniscus asellus* versucht, durch Kastrations- und Transplantationsversuche einen tieferen Einblick in die ursächliche Bedingtheit der Geschlechtsunterschiede zu gewinnen. Da die Tiere Verletzungen des Körpers gegenüber recht empfindlich sind, bereitet die Operationstechnik gewisse Schwierigkeiten, die sich jedoch durch geeignete Methoden umgehen liessen. Trotzdem blieb die Absterberate in allen Versuchsreihen relativ hoch (60–90%), so dass mit ziemlich grossen Individuenzahlen gearbeitet werden musste, um zu einem Erfolg zu kommen.

Bisher konnten folgende Ergebnisse erzielt werden:

[1] W. v. Buddenbrock, *Vergleichende Physiologie*, Bd. 4 «Hormone» (Verlag Birkhäuser, Basel 1950).

[2] H. Stamati, Bull. Soc. Zool. *13*, (1888). – H. Przibram, Arch. Entwicklungsmech. *43*, (1917).

[3] V. Haemmerli-Boveri, Z. vergl. Physiol. *4*, 668 (1926). – M. L. Le Roux, Bull. Biol. Suppl. *16*, 1 (1933). – H. G. Callan, J. exper. Biol. *17*, 168 (1940).

[4] H. Charniaux, C. r. Acad. Sci. *234*, 2570 (1952).

[5] G. de Lattin, Z. Vererbungslehre *84*, 1 (1951); *84*, 536 (1953).

Tabelle I

Versuchsserie	Grösse der Versuchs-♀♀ in Millimetern zur Zeit der Operation	Anzahl der überlebenden Tiere	Reaktion			Beobachtungsdauer vor der Sektion
			sekundäre G.-Merkmale		Gonade	
			negativ	positiv		
1	6–7	3	—	3	reduziertes Ovar	6–8 Wochen
2	3–4,5	6	4	2	intersex	12–18 Wochen
3	10–12	4	2	2	reduziertes Ovar	12–18 Wochen

1. Kastrationen (die unvorhergesehenerweise schwieriger durchzuführen waren als einfache Transplantationen) ergaben beim ♂ (Grösse: 5–8 mm) bisher keinen fassbaren Effekt. Individuen, deren Hodenschläuche exstirpiert worden waren, zeigten auch nach erfolgter Häutung keine Veränderungen an Penis und Gonopoden und regenerierten diese späterhin nach Amputation in normaler Weise. Der nach dieser Operation verbleibende Gonadenrest, der lediglich als Speicherorgan für die Spermien fungiert, blieb unverändert. Totalexstirpation des ganzen männlichen Apparats hatte bisher fast stets einen letalen Effekt, so dass über diese Versuchsgruppe noch keine sicheren Aussagen gemacht werden können.

2. Die eindeutigsten Ergebnisse wurden nach Transplantation von Hodenschläuchen in ♀♀ verschiedenen Alters erzielt (Tab. I). Von insgesamt 50 in dieser Weise operierten Tieren überlebten 13 die nächste Häutung. Während 6 von ihnen trotz mehrmonatiger Beobachtung keinen erkennbaren Effekt zeigten (zwei Exemplare bildeten sogar ein normales Marsupium aus), waren die 7 anderen äusserlich – das heisst, was die Ausbildung von Penis und Gonopoden anbetrifft – völlig in die männliche Phase umgeschlagen. Von dieser Umwandlung waren sowohl junge ♀♀ kurz nach Erreichung der Geschlechtsreife wie auch weitaus ältere Exemplare betroffen. Die Ausbildung von Penis und ♂-Gonopoden war in allen Fällen, in denen sie überhaupt auftrat, vollständig, wenn diese auch nach der ersten Häutung zumeist noch nicht die volle Grösse erreichten. Intermediäre Formen mit Intersexcharakter wurden nicht gefunden.

Dagegen zeigten die Gonaden der umgewandelten ♀♀ eine durchweg geringere Beeinflussung. Der Charakter des Ovars blieb in allen Fällen noch klar erkennbar; zumeist kam eine Beeinflussung nur in einer starken Reduktion des Keimgewebes und im vollständigen Fehlen von Eiern zum Ausdruck. Eine weitergehende Umwandlung des Ovars konnte bisher nur in zwei Fällen nachgewiesen werden, in denen es sich bezeichnenderweise um Tiere handelte, die in einem relativ sehr jugendlichen Stadium operiert wurden. Bei diesen ist die distale Partie des reduzierten Ovars kaudalwärts stark in Richtung auf den Penis verlängert, ohne dass indessen eine wirkliche Verbindung mit diesem zustandekommt. Zudem ist diese Verlängerung intensiv schwarz pigmentiert, wie dies sonst nur für die Vasa deferentia charakeristisch ist. In solchen Fällen kann von einer deutlich intersexen Gonade gesprochen werden, obwohl oogenes und spermatogenes Gewebe selbst zu fehlen scheinen.

Die Umwandlung der 1. und 2. Pleopoden des ♀ zu Gonopoden, die Ausbildung eines Penis und die gelegentliche Umwandlung des Ovars zu einer in männlicher Richtung differenzierten Intersexgonade erfolgen dabei eindeutig unter dem Einfluss des implantierten Hodengewebes. Dieser Schluss scheint gerechtfertigt, wenn man – neben den soeben mitgeteilten Ergebnissen – in Betracht zieht, dass 1. derartige Umbildungen der sekundären Geschlechtsorgane an zahlreichen unbehandelten Oniscus-♀♀ niemals auch nur andeutungsweise beobachtet wurden, 2. alle behandelten Tiere mit Sicherheit differenzierte ♀♀ und nicht etwa undifferenzierte Juvenilformen waren, und 3. weder blosse Verletzung noch Transplantation von Ovar oder Nervengewebe bei weiblichen Tieren jemals einen solchen Effekt ausgelöst hat. Die Tatsache, dass nur ungefähr die Hälfte der überlebenden ♀♀ auf die Operation positiv reagierte, spricht keineswegs gegen diese Auffassung, sondern ist sicherlich in dem gelegentlichen Versagen der noch verbesserungsbedürftigen Operationstechnik zu suchen.

Tabelle II

Versuchsreihe	Anzahl der behandelten ♀♀	Davon sofort nach Operation abgestorb.	Anzahl der behandelten ♂♂	Davon sofort nach Operation abgestorb.
Implantation von Ovar . . .	7	1	8	7*
Injektion von ♀-Hämolymphe	1	6	6	6

* Das verbliebene ♂ starb einige Zeit danach!

3. Die reziproke Operation, also die Transplantation von Ovargewebe in ♂♂, hat bisher stets zum Tode der Versuchstiere geführt (vgl. Tab. II). Da dieser Eingriff sicherlich, operativ gesehen, nicht schwerwiegender ist als der zuvor besprochene und die Transplantation von Ovar auf ♀♀ keineswegs einen tödlichen Effekt haben muss, ist die beobachtete Letalwirkung möglicherweise auf eine «Giftwirkung» der Ovartransplantate im ♂ zurückzuführen.

Die Versuche werden vom erstgenannten Verfasser fortgesetzt.

G. de Lattin und F.-J. Gross

Abteilung für Genetik des Forschungsinstituts für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen (Pfalz), den 23. April 1953.

Summary

A brief report is given of some experiments carried out with the woodlouse *Oniscus asellus*. Effects of gonadectomy and of the transplantation of gonads of the other sex were studied. The castration of male woodlice never produced a visible alternation of their secondary sex-characteristics. The transplantation of testicular tubes into females of a different age induced a complete change of the 1. and 2. pleopods to male gonopods and the formation of a penis in about 50% of the surviving animals. Rarely there was also observed a clear transformation of the ovaries in an intersexual direction. The transplantation of ovarian tissue or of female hemolymph into male woodlice caused hitherto always a lethal effect.

Thermal Exposures of Ectoderm Cells Isolated from Amphibian Gastrulae

The neuralizing effect of various unrelated chemical compounds acting upon gastrula ectoderm in amphibia can be understood if one accepts Holtfreter's[1] explanation of a sublethal cytolysis of the cells as the "common denominator" of all these reactions. Holtfreter's hypothesis gains additional support from the fact that almost all the artificial inductors so far tested produce a sublethal cytolysis. In order to explore the underlying mechanism of this sublethal cytolysis of cells, a study of the action of thermal exposures on the isolated ectoderm cells of gastrula has been made; an attempt has also been made to follow the basophilia after such a thermal treatment.

The presumptive ectoderm cells were removed from early gastrulae of *Triturus alpestris*. In a specially designed thermostat, the cells were exposed for the desired length of time, the temperature varying between 26° and 42°. Following the heat treatment, the cells were transferred to normal Holtfreter solution at 19° for culture. The total number of explants made was 150. The minimal period of culture was 7 days, the maximal 14 days. The explants were fixed in Zenker's fluid with acetic acid and the sections were stained in Toluidin blue to follow the basophilia of the cells.

Discussion. The foregoing experiments make it clear that thermal shocks exerted on the isolated gastrula ectoderm are ineffective in producing neuralization. The changes produced by a sublethal cytolysis are thus not necessarily the same in heat treated and chemically treated cells. It looks as if a certain "type" of mild cytolysis, but not all cytolysis, can lead to neural differentiaiton.

Brachet's claim that nucleoprotein granules play a part in the process of induction and differentiation of cells is in agreement with the failure of differentiation in our heat-treated ectoderm cells: whenever there is a weak or no cytoplasmic basophilia in the cells, there is invariably a blocking of development. That heat shocks result in the depolymerization of DNA with an increase in the maximum of ultraviolet absorption (Thomas[2]), and produce a complete inhibition of ribonucleic acid synthesis (Steinert[3]), is already known.

[1] J. Holtfreter, Symp. Soc. exp. Biol. *2*, 17 (1948).
[2] R. Thomas, Exper. *7*, 261 (1951).
[3] M. Steinert, Bull. Soc. Chim. Biol. *33*, 549 (1951).

At the low range of temperature shocks, some of the cells may become revitalized and differentiate into epidermal structures. This confirms, on explants, what Brachet[1] had observed after implantation of heat-treated cells into normal gastrulae. He has observed that this revitalization of the cells is linked with a reappearance of the basophilic granules; we have been able to observe cytochemically a similar phenomenon in our cells. But one should insist on the mode of differentiation shown by the revitalized cells: they become epidermal and not neural. Thus the cytolytic action of the heat, if there is any, does not initiate the neuralization of the isolated gastrula ectoderm cells, in contrast with the cytolytic actions of chemicals. It is thus clear that neuralization can only result from a certain "type" of sublethal cytolysis and that thermal exposures in the temperature range studied do not provide for such a tissue reaction in isolated condition. S. Mookerjee[2]

Laboratory for Animal Morphology, University of Brussels, May 28, 1953.

Résumé

Des explantats ectodermiques de gastrulas de *Triturus alpestris* ont été soumis à des chocs thermiques dans des conditions variées; il ne s'est jamais produit de neuralisation des explantats, dont la basophilie était très faible. Il faut en conclure que la neuralisation des explantats ectodermiques ne se produit que lorsque les cellules ont été soumises à un type particulier de précytolyse.

[1] J. Brachet, Symp. Soc. exp. Biol. *63*, 173 (1952).
[2] Present address: Cell Research Unit, Chittaranjan Cancer Hospital, Calcutta 26, India.

Abhängigkeit der Katalaseaktivität von der H_2O_2-Konzentration

Die seit mehr als 20 Jahren beschriebene Abhängigkeit der Katalaseaktivität (monomolekulare Reaktionskonstante) von der verwendeten H_2O_2-Konzentration wird nach Untersuchungen von Theorell[1], Bonnichsen, Chance und Theorell[2] als Artefakt angesehen, das

[1] H. Theorell, Exper. *4*, 100 (1948).
[2] R. K. Bonnichsen, B. Chance und H. Theorell, Acta chem. scand. *1*, 685 (1947).

Results

Thermal exposure at °	No. of cases	Time exposed, in hours or minutes	Nature of basophilia	Type of differentiation
26	12	1 hour	low	blocked
28	12	1 hour	low	blocked
28	8	24 hours	low	blocked
20	12	1 hour	weaker	blocked
30	8	2 hours	weaker	blocked
32	8	3 hours	very weak	blocked
34	12	1 hour	very weak	blocked
34	8	2 hours	very weak	blocked
35	8	2 hours	very weak	blocked
37	12	1 hour	almost removed	blocked
37	8	3 hours	almost removed	blocked
40	12	5 minutes	almost removed	blocked
40	8	15 minutes	almost removed	blocked
42	12	3 minutes	removed	blocked
Control (19)	10	—	rich	epidermal

auf der Verwendung zu niedriger Enzymkonzentrationen beruht. Durch Inaktivierung und Adsorption soll ein Teil der Katalase unwirksam werden, wodurch der gefundene Verlauf der Aktivität erklärt wird. Seit den Arbeiten von EULER, JOSEPHSON[1] und WILLIAMS[2] wird vielfach eine Abhängigkeit von der Substratkonzentration beschrieben. Sie hat im Sinne der Michaelisschen Theorie[3] zur Definition einer Substrat-Enzym-Verbindung nach dem Massenwirkungsgesetz und somit zu einer Bestimmung der «Michaeliskonstante» geführt. Zweifellos wird, wie auch die erst genannten Autoren ausführen, ein solcher Tatbestand nicht vorliegen, da sich bei den schnell ablaufenden, zum Teil irreversiblen Reaktionen ein Gleichgewicht niemals einstellen kann.

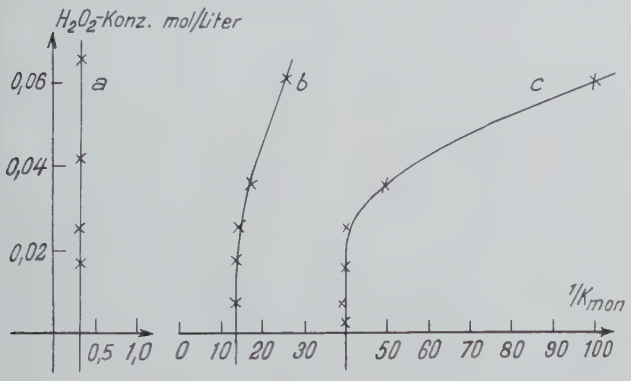


Abb. 1. Abhängigkeit des reziproken Wertes der monomolekularen Reaktionskonstanten von der H_2O_2-Konzentration bei kristallisierter Rinderleberkatalase in verschiedenen Verdünnungen (Erläuterungen siehe Text).

Trotzdem bleibt die Frage offen, ob die gefundene Abhängigkeit zu Recht besteht oder durch Inaktivierung und Adsorption erklärt werden kann.

Wir haben deshalb H_2O_2-Spaltungsgeschwindigkeiten von Katalasepräparaten verschiedener Herkunft und Konzentrationen gemessen. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 1 und 2 zusammengestellt. Nach der von VEIBEL und LILLELUND[4] abgeänderten Methode von LINNEWEAVER und BURK[5] ist die H_2O_2-Konzentration s gegen den reziproken Wert der monomolekularen Reaktionskonstanten $k_{mon} = 1/t \log_e s_o/s$ aufgetragen. Als Enzympräparate dienten kristallisierte Rinderleberkatalase (Kat. f = 30000), Kolibakterien sowie zellfreie Kataselösung aus zermahlenen Bakterien. Die Reaktion erfolgte bei 20° C in $n/50$ Phosphatpuffer, pH = 7,0. Bei Spaltungsansätzen mit konzentrierteren Enzymlösungen wurden alle 10 s 10 cm³ der Reaktionslösung in verdünnte Schwefelsäure geblasen und das nicht zersetzte Wasserstoffperoxyd titrimetrisch bestimmt. Bei den weniger konzentrierten Enzymlösungen erfolgte die Entnahme alle 2 min. k_{mon} muss dann auf den Zeitpunkt t = O extrapoliert werden.

Wie Abbildung 1*a* zeigt, ist bei der Leberkatalase k_{mon} von der verwendeten H_2O_2-Konzentration unabhängig. Verdünnt man die Enzymlösung auf das etwa 40fache (Abb. 1*b*), so nimmt k_{mon} bei höheren H_2O_2-Konzentrationen ab. Wird die Kataselösung nochmals auf das etwa 3fache verdünnt (Abb. 1*c*), so vergrössert sich die Abnahme der Aktivität bei höheren Substratkonzentrationen. Hierbei handelt es sich also eindeutig um einen durch Enzymverdünnung und H_2O_2-Konzentration bewirkten Effekt, denn bei geringerer Wasserstoffperoxydkonzentration bleibt k_{mon} von der Substratkonzentration unabhängig.

Anders verhält sich die hier verwendete Kolikatalase. Ihre Aktivität zeigt in jedem Falle trotz gleicher Enzymkonzentration eine Abhängigkeit von der zugesetzten H_2O_2-Menge, gleichgültig, ob die Enzymkonzentration hoch oder niedrig ist. Die Funktion $s = f(1/k_{mon})$ stellt bei niederer Wasserstoffperoxydkonzentration wieder eine Gerade dar, die aber eine Neigung gegen die Abzisse besitzt. Dieselbe Abhängigkeit zeigt auch eine verdünnte

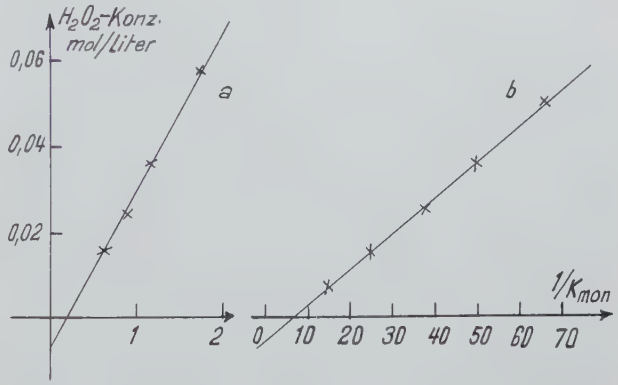


Abb. 2. Abhängigkeit des reziproken Wertes der monomolekularen Reaktionskonstanten von der H_2O_2-Konzentration bei zwei verschiedenen Konzentrationen einer Zellaufschwemmung von *E. coli* (Erläuterungen siehe Text).

Zellaufschwemmung von *Escherichia coli* (Abb. 2*b*). Bei verdünntem zellfreiem Extrakt wird bei höheren H_2O_2-Konzentrationen wieder eine Abweichung von der Geraden beobachtet. Diese muss ebenfalls als ein Inaktivierungsvorgang durch Wasserstoffperoxyd gedeutet werden.

Um zu untersuchen, wie weit Verunreinigungen einen Einfluss auf den Aktivitätsverlauf haben, wurden Versuche mit Leberbrei durchgeführt. Die Funktion $s = f(1/k_{mon})$ besitzt geometrisch dieselbe Gestalt, wie sie auch die aus dem Brei gewonnene kristallisierte Katalase zeigt. Ebenso besitzt eine gereinigte Kataselösung aus *E. coli* dieselben hier erwähnten Eigenschaften wie ungereinigte.

Die Versuche beweisen, dass die bei der hier verwendeten Bakterienkatalase gefundene Abhängigkeit auch für hohe Enzymkonzentrationen gilt und somit vom Verdünnungsgrad unabhängig ist. Lediglich die Steigerung der Geraden $s = f(1/k_{mon})$ ändert sich mit der Enzymkonzentration. Je grösser die Enzymmenge ist, desto steiler verläuft die Gerade. Der Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate bleibt innerhalb des hier untersuchten Bereiches unverändert. Eine Täuschung durch Artefakte ist unwahrscheinlich.

Das Verhalten der Aktivität verschiedener Katalasepräparate kann daher bei Variation der H_2O_2-Konzentration verschieden sein. Der bei höheren H_2O_2-Konzentrationen erlittene Aktivitätsverlust lässt sich vom normalen Verhalten unterscheiden. Ob es bei der katalatischen H_2O_2-Zersetzung verschiedene Reaktionsmechanismen gibt, muss geprüft werden. Hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden.

H. LÜCK[1]

Dairy Industry Control Board, Windhoek (Südwestafrika), den 21. April 1953.

[1] H. EULER und K. JOSEPHSON, Liebigs Ann. Chem. *452*, 1 (1927).
[2] J. WILLIAMS, J. General Physiol. (Amer.) *11*, 309 (1928).
[3] L. MICHAELIS und M. L. MENTEN, Biochem. Z. *49*, 333 (1913).
[4] S. VEIBEL und H. LILLELUND, Kgl. Vidensk. Slsk. Math.-fys.-med. (Dän). *17*, Nr. 6 (1940).
[5] H. LINNEWEAVER und D. BURK, J. Amer. chem. Soc. *56*, 658 (1934).

[1] Jetzige Adresse: Windhoek (Südwestafrika), Control Board, P. O. B. 520.

Summary

Catalase preparations of different origin indicate different behaviour during the splitting of the H_2O_2. The monomolecular reaction constant in spite of the same amount of enzyme can be changed by variation of the beginning concentration of H_2O_2, or remain constant. An interpretation of the first case through inactivation of the enzyme leads to no satisfactory explanation.

ATPase Activity of Myofibrils and Granules Isolated from Muscle

Action of Progesterone and Desoxycorticosterone

It was explained in some recent researches made in our Institute[1] that the contraction of myofibrils isolated from guinea pig skeletal and heart muscle is inhibited by progesterone and desoxycorticosterone added in small amounts. As a continuation of the investigations on this question, the reaction of ATPase activity of both myofibrils and granules from muscle and heart towards the same two hormones was now tested. The results are described in this paper.

The fibrils were isolated from myocardic and skeletal muscle of guinea-pig according to Schike and Hass[2], a very pure preparation being obtained with this method. Since tryptic digestion is involved in this method, a new procedure was also tried in order to avoid this step, since trypsin might produce some modifications of enzyme activity. The tissue was cut to slices with a freezing microtome and the slices kept in 0·25 M sucrose. The suspension was homogenated in a blendor for 30 s, then centrifuged for 10 min at 600 g. The sediment was again suspended in 0·25 M sucrose and submitted to a new centrifugation for 3 min at 400 g in order to eliminate the larger impurities. The supernatant fluid was then centrifuged for 10 min at 2000 g and the sediment particles washed with pH 6·9 borate buffer, until a perfectly clear supernatant fluid was obtained. The sediment consisted of pure myofibrils without cytoplasmatic elements contaminatio.

Many methods have been described in the last years permitting the separation of cytoplasmic granules (mitochondria ?) from skeletal and heart muscle homogenate (Paul et coll.[1], Harmand and Feigelson[2], Green and coll.[3], Plaut and Plaut[4]). Since all these methods did not give optimal results because of the great contamination with myofibrils and cellular debris material, a new method was developed, including the preparation of these sections with a freezing microtome prior to homogenization in blendor. The guinea-pig cardiac and skeletal muscle was cut in 15μ slices with a freezing microtome and the slices kept in 50 ml of 0·25 M sucrose. The slices suspension was then homogenated in blendor for 45 s. The homogenate was centrifuged for 10 min at 600 g and the sediment was washed with 0·25 M sucrose and centrifuged again at 600 g for 10 min. The combined supernatant fluids were centrifuged at 12 000 g for 15 min. A Servall type S-S-1 centrifuge was used for this investigations and all procedures were performed in a cold room at + 5°C.

A very fine mitochondria preparation was obtained. The granules had characteristic spherical shape and appeared to be smaller than liver mitochondria. No modification was observed in their shape after suspension in water. They were able to be maintained for 2 days at 2°C without any evident modification of shape and enzymatic activity, but complete disintegration occured after this time. The term "mitochondria" is used in this paper for indicating these granules.

The ATPase activity of myofibrils and mitochondria was determined in the following manner[5]. As a rule the test system was composed of 1 ml myofibrils and mitochondria suspension, 1 ml substrate solution (1×10^{-3} M ATP), 0·05 ml of 0·1 M $CaCl_2$, and 0·35 ml of borate buffer, pH 6·9 (containing 0·05 M boric acid and 0·008 M NaOH), amounting to a total of 2·4 ml. The mixture was

[1] F. Mor, Arch. Sci. Biol. (1953). (In the press).
[2] A. F. Schicke and G. M. Hass, J. Exper. Med. *91*, 655 (1950).
[1] M. H. Paul and coll., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *79*, 349 (1952).
[2] J. W. Harman and M. Feigelson, Exp. Cell. Res. *3*, 47 (1952).
[3] D. E. Green and coll., J. Biol. Chem. *172*, 389 (1948).
[4] G. W. E. Plaut and K. A. Plaut, J. Biol. Chem. *199*, 141 (1952).
[5] K. G. Stern and coll., J. Biol. Chem. *188*, 273 (1951).

ATPase activity expressed by P/mg N

	N°	Normal	With progesterone	With desoxycorticosterone
Heart mitochondria	1	111·2	64·4	75·5
	2	89·5	65·8	86·2
	3	102·0	73·9	74·0
	4	105·3	79·4	82·5
	5	94·7	68·0	70·8
	Media	*100·54*	*70·18*	*73·80*
Skeletal muscle mitochondria	1	140·5	125·8	92·5
	2	185·5	145·5	147·3
	3	164·4	134·2	114·2
	4	170·0	140·0	135·5
	5	159·4	128·0	130·4
	Media	*162·52*	*134·70*	*123·98*
Skeletal muscle myofibrils prepared without trypsin	1	116·9	76·2	72·2
	2	120·3	98·5	90·8
	Media	*118·60*	*87·35*	*81·50*
Skeletal muscle myofibrils prepared with trypsin	1	125·5	100·5	107·5
	2	150·0	113·0	101·5
	Media	*137·75*	*106·70*	*104·50*
Heart myofibrils prepared without trypsin	1	98·1	78·6	75·3

incubated for 30 min at 37°C, with occasional agitation. At the end of the incubation period, the fibrils and mitochondria were precipitated by addition[1] 2 ml 20% trichloroacetic acid. After centrifuging, the inorganic P content of the clear supernatant fluid was determined with a BECKMAN Spectrophotometer by the method of FISKE and SUBBAROW[2], on 1 ml aliquot. To establish the influence upon enzymatic activity of progesterone and desoxycorticosterone, similar systems were prepared in which 0·35 ml borate buffer was replaced by either 0·35 ml of desoxycorticosterone glucoside 1×10^{-3} M solution or 0·35 ml of 1×10^{-3} M suspension of progesterone, which is not soluble in water. Appropriate blank determinations were carried out on mixtures from which either the mitochondria and fibrils or the substrate had been omitted. The P amounts obtained were substracted. Corrected values were expressed as a ration γ P/mgN.

The total nitrogen content was determined by usual micro Kjeldahl method.

The results of experiments are summarized in the Table.

As shown in the Table, desoxycorticosterone, as well as progesterone, produced a strong inhibitory action on ATPase activity of both cardiac and skeletal muscle fibrils and mitochondria. Such an inhibition was about 30% for heart mitochondria and 20% for muscle mitochondria. Similar inhibition values were obtained with both cardiac and skeletal muscle fibrils. Higher activities were shown by fibrils prepared with the first method, including tryptic digestion, than by those isolated without trypsin. This fact agrees with PERRY's observation on fresh fibrils.

On the grounds of the results of the present experiments, the inhibition on ATPase activity by both steroid hormones may be responsible for the inhibition of the contraction of myofibrils which was previously described.

Since no considerable differences between mitochondria and fibrils ATPase activities were observed, the question arises whether muscular granules are derived from the disrupture of myofibrils.

Further researches on this problem are in progress.

MARIA ASSUNTA MOR

Department of General Pathology and Bacteriology, University of Genoa, March 21, 1953.

Riassunto

L'autrice ha studiato l'attività ATPasica dei mitocondri e miofibrille isolate da muscolo e cuore di cavia ed ha trovato: 1) Il progesterone e il desossicorticosterone esercitano una azione inibente su tale attività. 2) Le miofibrille preparate con tripsina hanno una attività maggiore di quelle preparate con saccarosio. 3) Non esiste notevole differenza tra attività ATPasica dei mitochondri e quella delle miofibrille.

[1] K. G. STERN and coll., J. Biol. Chem. *188*, 273 (1951).
[2] C. H. FISKE and Y. SUBBAROW, J. Biol. Chem. *66*, 375 (1925).

Action of Papain and of Trypsin on the Morphology and some Enzymatic Activities of Isolated Mitochondria

It was shown in previous experiments that some enzymatic principles present in liver homogenates exert an inactivating influence on succinoxidase of isolated mitochondria. Although it was reported by MEYER[1], and more recently by ZOLLINGER[2], that mitochondria show a great resistance against proteases (pepsin in acid, trypsin in alcaline medium), the action of some purified proteases, namely papain and trypsin, on the morphology and on the enzymatic activities of isolated mitochondria was studied in this work in order to see whether the inactivating influence of homogenates might be connected with their protease activity.

Papain used in this work was a crude preparation from the latex of *Carica papaya*. Trypsin was a crystalline preparation from pancreas, isolated according to KUNITZ[3]. Protease activity of both enzymes was tested by titrating with 0·01 N NaOH the acidic groups liberated from a denaturated hemoglobin 2% solution after an incubation time of 30 min at 38°C with 1 mg of the enzyme material. Both papain and trypsin were found to be very active, and devoid of desoxyribonuclease, ribonuclease, lecithinase and lipase activities, as tested respectively with the methods of LASKOWSKI and SEIDEL[4], KUNITZ[5], MACFARLANE[6], WILLSTÄTTER[7].

Mitochondria were isolated from 1 g liver with the technique of HOGEBOOM *et al.*[8], by centrifugation of 0·25 *M* sucrose 10% homogenates, albino rats from a selected strain being used as experimental animals. After a previous centrifugation at 1500 g for 15 min, which produced sedimentation of tissue débris, unbroken cells, red cells, nuclei and of some mitochondria, the main portion of mitochondria was collected by a second centrifugation at 12,000 g in the SS-I SERVALL Centrifuge, in the cold room at a maximal temperature of 5°C. Washings were made by resuspension with 0·25 *M* sucrose and sedimentation at 12,000 g for 30 min. Morphological observations were made with the ZEISS-WINKEL phase contrast microscope. Turbidimetric readings were made with a BECKMAN Mod. DU spectrophotometer, by measuring the extinction at 750 mμ.

Enzymatic activities were studied at 38°C in a WARBURG conventional apparatus, the experiments lasting 1 h. After the final sedimentation of mitochondria, the pellet on the bottom of the centrifuge tube was suspended into 6 ml of 0·067 *M* phosphate buffer solution (pH 7·4) and the homogeneous suspension was distributed into 2 WARBURG vessels, 3 ml for each of them. 0·2 ml of sodium succinate, or of 0·2 *M* dl-alanine or 1 *M* sodium lactate were added respectively for the study of succinic acid oxidase, d-aminoacid oxidase and lactic acid oxidase, final concentration of substrates being 0·0125 *M* for succinate and dl-alanine and 0·0625 *M* for lactate. 0·20 ml KOH 30% were placed in the central well. Gaseous environment was air.

Cytochrome oxidase activity was studied by the method of STOTZ *et al.*[9]. 0·2 ml of a mitochondrial suspension prepared by diluting the particles isolated from 1 g of tissue to 5 ml with 0·067 *M* phosphate buffer were used as enzyme source. Concentration of added cytochrome *c* was $2{\cdot}4 \times 10^{-4}$ *M* and that of hydroquinone was 7 mg pro vessel. Controls for autoxidation

[1] H. MEYER, reported by ZOLLINGER.
[2] H. C. ZOLLINGER, Rev. Hématol. *5*, 696 (1950).
[3] M. KUNITZ and J. H. NORTHROP, Science *80*, 505 (1934).
[4] M. LASKOWSKI and M. K. SEIDEL, Arch. Biochem. *7*, 465 (1945).
[5] M. KUNITZ, J. Gen. Physiol. *24*, 15 (1940).
[6] M. G. MACFARLANE, Biochem. J. *47*, 270 (1950).
[7] R. WILLSTÄTTER, E. WALDSCHMIDT-LEITZ, and F. MEMMEN, Z. physiol. Chem. *125*, 93 (1923).
[8] G. H. HOGEBOOM, W. C. SCHNEIDER, and G. E. PALLADE, J. Biol. Chem. *172*, 619 (1948).
[9] E. STOTZ, A. E. SIDWELL, and T. R. HOGNESS, J. Biol. Chem. *124*, 733 (1938).

Table I

Effect of proteases on enzymatic activities of isolated mitochondria. (The data represent mm^3 O_2 consumed in 1 h at 38°C with air as gaseous environment).

Enzymes	Experiment No.	Protease added	Amount of protease added mg	Control without protease added	In the presence of protease	Inactivation %
Succino-oxidase	1	Papain	1	311·48	200·40	35·7
	2	Papain	1	322·47	206·56	35·9
	3	Papain	2	311·48	132·72	54·18
	4	Papain	2	322·47	137·26	57·4
	5	Papain	5	322·47	77·63	75·9
	6	Papain	8	311·48	82·30	73·6
	7	Papain	10	315·98	64·80	79·5
	8	Trypsin	0·1	321·03	70·51	78·04
	9	Trypsin	1	321·03	51·97	83·8
	10	Trypsin	1	313·78	51·05	83·7
	11	Trypsin	2	313·78	47·03	85·02
	12	Trypsin	2	321·03	48·09	85·02
	13	Trypsin	5	313·78	34·18	88·9
	14	Trypsin	10	310·40	27·12	91·3
Cytochrome oxidase	15	Papain	0·5	21·07	7·12	66·2
	16	Papain	1	14·57	5·04	65·4
	17	Papain	5	18·33	3·93	78·6
	18	Papain	10	15·30	1·90	87·6
	19	Trypsin	0·5	21·07	1·2	94·4
	20	Trypsin	1	14·57	0·7	95·2
	21	Trypsin	5	18·33	0	100·0
	22	Trypsin	10	15·30	0	100·0
D-aminoacid oxidase	23	Papain	1	24·43	22·69	7·2
	24	Papain	10	26·12	12·40	52·6
	25	Trypsin	1	25·87	10·42	59·8
	26	Trypsin	10	23·6	8·4	64·5
Lactic acid oxidase	27	Papain	1	44·42	29·23	34·2
	28	Papain	10	47·52	20·12	57·7
	29	Trypsin	1	44·42	19·94	55·2
	30	Trypsin	10	49·12	11·72	76·2

of hydroquinone in presence of boiled mitochondria and for endogenous O_2-uptake of mitochondria plus cytochrome *c* were performed. Cytochrome *c* was prepared from horse heart according to Keilin and Hartree[1] and was found to contain 0·37% Iron.

As shown in Table I, succinoxidase and cytochrome oxidase activities of isolated mitochondria are practically completely inactivated by both papain and trypsin at a very low concentration. Trypsin seemed to possess a more drastic inactivating influence than papain. Inactivation was not so strong on d-amino acid and on lactic acid oxidases. It was seen also that the turbidity of mitochondrial suspensions is very strongly reduced as a consequence of treatment with papain and with trypsin (Table II). In the attempt to study whether this fact is due to a disruption of mitochondria, mitochondrial counts were made following the general procedure outlined by Allard *et al.*[2]. It is difficult to make very exact counts with this method, owing to the small diameter of the particles, to their non-constant size and to their great tendency to conglutinate. Mitochondrial counts thus give only approximate values and only very large differences can be regarded as significant. The counts were repeated 5–6 times for each experiment and the average value was taken. Mitochondria from 1 g of liver were suspended in 10 ml of 0·067 *M* phosphate buffer and the homogeneous suspension was divided into 2 fractions, each of 5 ml. 2 mg of trypsin or of papain were added to the second one and both fractions were incubated at 38°C for 1 h. Counts were then made under the phase contrast microscope, with Ph2 objective, by using a common Bürker apparatus for blood elements counts. A very strong decrease of the number of mitochondria as a consequence of the treatment with proteases was found with this procedure. In fact, the control without papain gave the value of $24{\cdot}2 \pm 5{\cdot}1 \times 10^{10}$ mitochondria pro gram of fresh tissue, while the papain-treated sample contained only $6{\cdot}4 \pm 1{\cdot}2 \times 10^{-10}$ mitochondria. The values for trypsin were respectively $25{\cdot}0 \pm 4{\cdot}6 \times 10^{10}$ and $6{\cdot}2 \pm 1{\cdot}6 \times 10^{10}$. Residual mitochondria appeared to be deeply damaged. The action of small amounts of papain or of trypsin on the morphology of mitochondria was then studied and followed at various periods of time from the beginning of the experiment. Very large changes are produced by both enzymes. Normal mitochondria appear as vesicles with a diameter of 1–3 μ and have a more dense shadowy rind resembling a new moon at one side of the sphere. A few minutes after the addition of the protease preparation, many mitochondria begin to appear more rifrangent than the normal ones. The process seems to start in the centre of the particle, which is soon transformed into a rifrangent sphere surrounded by a dense peripheral layer. 20–30 min after the beginning of the experiment some images can be seen which result probably from the coalescence of many damaged elements. These

[1] D. Keilin and E. F. Hartree, Biochem. J. *39*, 289 (1945).

[2] C. Allard, R. Mathieu, G. de Lamirande, and A. Cantero, Cancer Res. *12*, 407 (1952).

images resemble strongly those reported by ZOLLINGER[1] to be produced by treatment with crystalline desoxyribonuclease, but desoxyribonuclease activity was absent in the protease preparations used in this work. The number of mitochondria then began to decrease. After many hours, only a few mitochondria could be seen in the treated preparations.

Table II

Extinction at 750 mμ as a measure of the turbidity of normal and protease treated mitochondrial suspension. (Blank with distilled water; values for extinction of the added amount of enzymes subtracted)

Protease added	Amount of protease added mg	Extinction of the control without protease added	Extinction of the sample in the presence of protease
Papain	1	1·175	0·530
Papain	3	0·960	0·330
Trypsin	1	1·120	0·500
Trypsin	3	1·070	0·430

In other experiments, the action of proteases on the release of N and of nucleic acids P from mitochondria into the suspension fluid was investigated. Mitochondria from 1 g liver were diluted to 5 ml with 0·067 *M* phosphate buffer and the homogeneous suspension was divided into 2 fractions, to the second of which 3 mg of papain or of trypsin were added. After 1 h of incubation at 38°C, mitochondria were centrifuged down from the suspensions at 15,000 g for 30 min and the supernatant fluids were analyzed for N and nucleic acids P content. N was determined by microkjeldahl technique. Nucleic acids P was determined, following the technique of SCHMIDT and THANNHAUSER[2]. Controls for N and nucleic acids P of the enzyme material added were subtracted.

As shown in Table III, large amounts of N are released in the supernate as a consequence of the action of proteases. The amounts of nucleic acids P released in the supernate were also higher for the treated samples than for the untreated ones.

Chromatographic analysis of the amino acids released in the supernatant fluid was made according to the two directions capillary ascension method of WILLIAMS and KIRBY[3], mixtures of (1) 80 ml isobutanol, 20 ml acetic acid, 20 ml distilled water and of (2) 50 ml isobutanol, 50 ml pyridine beeing used as solvents. The spots were developed at 70°C for 30 min with ninhydrin 0·5% in isobutanol. It was found that both trypsin and papain produce release of amino acids from mitochondria into the supernate. Only a very slight amount of amino acids are released from untreated mitochondria, and only very faint spots of glycine and glutamic acid could be observed. The spots were larger after action of the proteases, and were particularly strong after treatment with trypsine. The following amino acids were identified from papain-treated chromatograms: lysine, arginine, hystidine, glycine, glutamic acid, alanine, tryptophan. The following amino acids were identified in the trypsin-treated chromatograms: leucine, phenylalanine, tyrosine, tryptophane, valine, methionine, proline, alanine, threonine, glutamic acid, aspartic acid, glycine, serine, hydroxyproline, arginine, lysine, histidine, namely all amino acids which were found to be present in mitochondria hydrolysates (DIANZANI[1]).

From the experiments described in this paper, evidence is given that mitochondria are digested by proteases. The presence in mitochondria of a semipermeable membrane, probably phospholipin in nature, has been suggested by many authors (CLAUDE and FULLAM[2], DALTON *et al.*[3], de DUVE *et al.*[4], ZOLLINGER[5]). Since neither lecithinase nor lipase activities were found to be present in the protease preparations used in this work, it suggests that a protein also may be contained in the mitochondrial membrane.

M. U. DIANZANI

Department of General Pathology, University of Genoa, March 10, 1953.

Résumé

L'auteur a étudié l'action de la papaïne et de la trypsine sur la morphologie et sur quelques activités enzymatiques des mitochondries isolées du foie de rat. La succinoxidase et la cytochrome-oxidase sont fortement inhibées par les deux protéases, tandis que l'inhibition de la d-aminoacidoxidase et de la lacticoxidase est plus faible. Le nombre des mitochondries est notablement réduit à la suite du traitement avec les deux protéases et une forte quantité de N et d'acides aminés sont aussi libérés dans la liqueur surnageante. L'auteur montre aussi les modifications de l'image en contraste de phase des mitochondries après traitement avec la papaïne et la trypsine.

[1] H. C. ZOLLINGER, Exper. *6*, 14 (1950).

[2] G. SCHMIDT and S. J. THANNHAUSER, J. Biol. Chem. *161*, 83 (1945).

[3] R. J. WILLIAMS and H. KIRBY, Science *107*, 455 (1948).

[1] M. U. DIANZANI, Arkiv för Kemi *4*, I (1952).

[2] A. CLAUDE and E. F. FULLAM, J. Exp. Med. *81*, 51 (1945).

[3] A. H. DALTON, H. KAHLER, M. G. KELLY, B. J. LLOYD, and M. J. STRIEBICH, J. Nat. Cancer Inst. *9*, 439 (1949).

[4] CH. DE DUVE, J. BERTHET, L. BERTHET, and F. APPELMANS, Nature *167*, 389 (1951).

[5] H. C. ZOLLINGER, Exper. *6*, 14 (1950).

Table III

Release of Nitrogen (N) and of nucleic acids Phosphorus (P) from mitochondria as a consequence of treatment with proteases (N and P contents of proteases added were substracted)

Protease added	Amount of protease added mg	mg N of Control without protease	mg N In the presence of protease	γ of nucleic acids P	
				Control without protease	In the presence of protease
Papain	1	11·7	21·5	2·6	5·76
Papain	2	11·7	21·7	2·6	6·34
Papain	3	11·6	22·5	2·3	6·62
Trypsin	1	11·7	27·7	2·3	6·34
Trypsin	2	12·0	28·5	2·3	6·62
Trypsin	3	11·8	29·2	2·01	7·2

Separation of Cytoplasmic Particles by Centrifugation in a Density-Gradient

If cellular constituents from tissue homogenates are isolated by means of *differential centrifugation*[1], the separation of the various fractions depends upon differences in sedimentation rate, which is determined mainly by the mass and surface of the particles. This procedure yields particle fractions of relative purity only, so that, especially for small-sized particles, the possibility of an overlapping between the fractions always has to be taken into consideration[2].

Density-gradients were introduced by Linderstrøm-Lang[3] for density measurements; sucrose gradients have been used by Pickels[4] and Kahler and Lloyd[5] as a technical aid in counteracting the convection currents, which occur in angle-head centrifuges. The first to use sucrose gradients in the centrifuge as a means of separating particles of different density were E. N. Harvey[6] and E. B. Harvey[7] in their experiments on the stratification and separation of living egg cells in the centrifugal field, and Brakke[8] and Holter[9] proposed to use the same principle for the separation of cell constituents in homogenates. In the proposed method, the range of the density gradient is extended beyond the specific gravity of the heaviest component and centrifugation is prolonged until all particles have come to equilibrium with the medium at the corresponding level of density. Under such conditions, therefore, the *particles are separated according to their density*, since mass and surface affect only the sedimentation rate, but not the final position in the gradient.

Since all modern high-speed centrifuges are equipped with angle-heads, which are rather unsuitable for this type of work[10] the present work had to be postponed until a swinging bucket rotor had been made available as an accessory to the "Spinco" centrifuge.

Brakke[8] actually obtained a separation of plant virus particles by gradient centrifugation, but in his case, the particle separation was still due to sedimentation rate. Density equilibrium (although mentioned as a separation principle) was not attempted and was perhaps also unobtainable within the range of density employed (1·04 to 1·16). A similar technique was also used by Behrens and Taubert[11] mainly for the isolation of cell nuclei from acetone-fixed material in non-aqueous media.

The present note deals with a first set of experiments on previously isolated cytoplasmic particles of Xenopus-liver tissue. There is evidence that mitochondria and submicroscopic particles (microsomes) reach density equilibrium at different levels within the gradient. Moreover the density-range is wider for mitochondria-like particles than for microsomes, thus suggesting a qualitatively non-homogeneous mitochondria-population.

Preparation of the Gradients. A suitable gradient-medium must fulfill the following conditions: density ca. 1·30, chemical inertness, low viscosity, moderate osmotic effect and miscibility with water. As a matter of fact, the most serious problem consists in finding a solution corresponding to such a series of requirements.

By mixing sucrose-solutions with "Diodon" (Di-ethanol-amine-salt of 3,5-di-iodo-4-pyridone-N-acetic acid)[1] the following stock-solutions could be obtained:

Diodon	Sucrose and 0·03 m Versene				
	10%	20%	30%	40%	
23·33%	1·16*a*	1·20*b*	1·25*c*	1·30*d*	Density
11·66%	1·10*e*	1·15*f*	1·20*g*		

With a calibrated micro-pipette, 0·3 ml of each of the above stock-solutions (2°C) were carefully layered in plastic tubes of 1·5 ml capacity, to build up three-step gradients of 0·9 ml total volume. Three types of gradients with different density-ranges were used, namely:

Gradient 234 S (*b*, *c*, *d*)	density 1·20–1·30
Gradient 123 S (*a*, *b*, *c*)	density 1·15–1·25
Gradient 123 L (*e*, *f*, *g*)	density 1·10–1·20

To check the density-distribution in the gradients, the tubes were introduced into the optical system of an electrophoresis-apparatus (0°C). The resulting "Schlieren-Curves" indicated, that a continuous gradient in density from the top to the bottom of the tube was established after 10–20 h.

Isolation of the Cytoplasmic Particle Fractions. Liver homogenates of young Clawed Frogs (*Xenopus laevis* Daud.)[2], prepared in 0·3 m sucrose + 0·01 m "Versene" (Di-Na-salt of ethylene-diamine-tetra-acetic acid)[3], were separated into two fractions by differential centrifugation[4], after removing the cell-debris and nuclei. The large cytoplasmic particles (= *fraction A*) were sedimented at 5,000 g (30 min) and from the supernatant a second sediment was precipitated at 20,000 g (60 min) to which we refer as *fraction I + B*. Both sediments were washed twice in the sucrose-versene-medium.

The microscopical analysis of *fraction A* revealed the presence of typical mitochondria-like particles. The pellet corresponding to *fraction I + B*, was clearly composed of two parts, namely a thin reddish layer of small mitochondria-like spherules and a larger transparent and jelly-like pellet. The mitochondria-like substance could be easily washed away with sucrose-versene-medium, yielding a yellowish suspension, which we designate as "intermediate fraction" (= *fraction I*) on account of both the intermediate size[5] and the behaviour of these particles in the density-gradient. The remaining compact jelly-like sediment, after being stirred up in sucrose-versene-medium, gave a milky, bluish-opalescent suspension, containing submicroscopic particles of 0·1–0·2 μ diameter[5] (= *fraction B*).

The isolated particles were preserved in the "Diodon" –sucrose–solutions, and microscopically, there were no detectable morphological changes.

[1] R. Bensley and N. Hoerr, Anat. Rec. *60*, 449 (1934). – A. Claude, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *9*, 263 (1941). – W. C. Schneider and G. H. Hogeboom, Canc. Res. *11*, 1 (1951).

[2] H. Hers, J. Berthet, L. Berthet, and C. de Duve, Bull. Soc. Chim. Biol. *33*, 21 (1951).

[3] K. Linderstrøm-Lang, Nature *139*, 713 (1937).

[4] E. G. Pickles, J. Gen. Physiol. *26*, 341 (1943).

[5] H. Kahler and B. Lloyd, J. Phys. Coll. Chem. *55*, 1344 (1951).

[6] E. N. Harvey, Biol. Bull. *61*, 273 (1931).

[7] E. B. Harvey, Biol. Bull. *62*, 155 (1932).

[8] M. Brakke, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 1847 (1951).

[9] H. Holter, Advanc. Enzymol. *13*, 1 (1952).

[10] E. G. Pickels, J. Gen. Physiol. *26*, 341 (1943). – H. Kahler and B. Lloyd, J. Phys. Coll. Chem. *55*, 1344 (1951).

[11] M. Behrens and M. Taubert, Z. physiol. Chem. *291*, 213 (1952).

[1] Kindly supplied by Lundbeck & Co., Copenhagen (Valby).

[2] R. Weber, Rev. suisse Zool. *59*, 268 (1952 a).– Bull. Galenica *15* 174 (1952 b).

[3] K. Cleland and E. Slater (in press 1953).

[4] "International Centrifuge" angle-head No. 295, $t = 0°C$.

[5] R. Weber and F. Carlsen, unpublished.

High Speed Centrifugation of the Particle Suspension in Density-Gradients. Density-gradients, kept for 10–20 h at 2°C, with a thin top-layer of 0·05 or 0·1 ml suspension of the fractions *A*, *A* + *B*, *B*, and *I* respectively, were spun in the swing-out head of a refrigerated (*t* = *ca.* 5°C) *spinco-ultra-centrifuge* (model *E*) at 24,630 RPM (ca. 60,000 g for the bottom of the tubes). Every 30 min the run was interrupted, the rotor transferred to the coldroom (*t* = 2°C) and the tubes photographed in order to obtain an objective record on the sedimentation for the different particle fractions. To indicate the density levels, minute airfilled glass-beads of known density were introduced into the gradients, to serve as reference-bodies[1].

Samples for microscopic and electron-microscopical examination[2] were withdrawn from the various layers by means of a capillary pipette the tip of which was bent to an angle of 90° in order to minimize vertical disturbances due to the aspiration current.

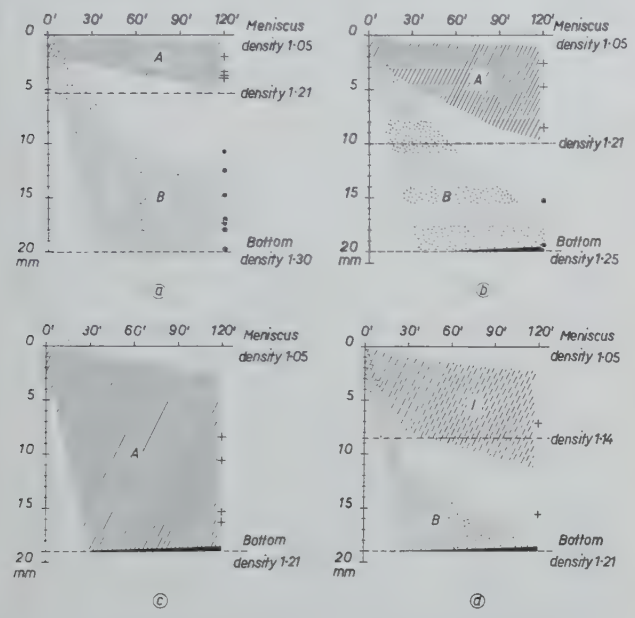


Fig. 1.—Approximate distribution of the particle fractions in different "Diodon"-sucrose-gradients after centrifugation
a = Gradient 234 S, *b* = Gradient 123 S, *c* and *d* = Gradient 123 L. The time of centrifugation is represented by the *x*-axis and the position of the particle fractions (*A*, *B*, *I*) is plotted on the *y*-axis as distance from the meniscus. The sedimentation of the different particle fractions is represented by the increasing thickness of the bottom line. The results of the microscopical analysis of the different samples are represented by: + sample rich in mitochondria-like particles, • sample without or with only few mitochondria (in the latter case probably due to contamination).

The data from different experiments involving the three types of "Diodon"-sucrose-gradients are assembled in Figure 1, *a–d*; the approximate positions of particle layers, after different times of centrifugation, are indicated schematically.

In the heaviest gradient (234 S) the particles of all fractions (*A*, *B*, *I*) are kept in suspension. According to the photographic record, equilibrium is established after approximately 2 h at 60,000 g. The *fractions A* and *I* respectively form a thin layer just below the meniscus, whereas the particles of *fraction B* appear as a dense bluish cloud above the bottom of the tube (Fig. 1*a*). If the density of the gradient is decreased, the layers due to *fractions A* + *I* spread out towards the bottom (1*b*). Thus the particles of *fraction A* have almost completely sedimented if the bottom-density is 1·20. On the other hand, *fraction I* at the same conditions still forms a concentrated top-layer (Fig. 1*d*) of light particles, which probably represents the smaller mitochondria (= "intermediate particles"). The submicroscopic particles of *fraction B* (microsomes) sediment more readily than mitochondria, since at a bottom-density of 1·25 they are partially and at 1·20 they are completely sedimented after a run of two hours at 60,000 g.

Our experiments thus indicate the possibility of separating at least mitochondria from microsomes, if centrifugation is performed in a "Diodon"-sucrose-gradient with a suitable density-range. Judging from the equilibrium positions of the particle layers in the different gradients and from the conditions for sedimentation to the bottom, we may assume a density-range of 1·10–1·20 for mitochondria-like particles (*fraction A* + *I*) and 1·25–1·30 for microsomes (*fraction B*).

Assuming that this separation method is only determined by the density of the cell-constituents and in no way affected by the mass and the surface of the particles, it would follow that the positions of the various fractions reflect in some respect their qualitative composition. Thus the narrow density-range found for microsomes (*fraction B*), would indicate a qualitatively rather uniform population of cytoplasmic particles. On the other hand, the wider range, estimated for mitochondria-like particles (*fractions A* and *I*), might be considered as an indication for a heterogeneous nature of these cell constituents.

Unfortunately there is little information on the density of cell particles. Some values for plant-virus particles were calculated to 1·25[1] and 1·27[2] respectively and may to a certain extent serve as comparison with our density-range for microsomes (1·25–1·30).

On this occasion we should not forget that the density of cytoplasmic particles, as they were used in our experiments, are dependent on both the homogenate- and the gradient-medium. Furthermore it must be stressed, that we have no information about the possible influence of the medium on the density, the chemical composition and the enzymatic activity of these particles. So far we can only state that the equilibrium position of the layers was stable, and that there was no detectable morphological alteration of the particles by the gradient-medium. Further experiments are necessary in order to elucidate these questions, to determine the yield of the various particles and to compare particle fractions isolated by the present method and by differential centrifugation.

H. Holter, M. Ottesen, and R. Weber[3]

Carlsberg Laboratorium, Copenhagen, May 31, 1953.

Note added in proof: While the present communication was in print, there appeared a note by Schneider, Dalpon, Kuss, and Felix, Nature *172*, 161 (1953), reporting the successful isolation of Golgi substance from Rats epididymis by similar technique.

[1] Such beads have been used for years at the Carlsberg Laboratory for the characterization of gradients. Although cumbersome to make they are better suited for the purpose than any substitute so far tried, on account of their stability.

[2] R. Weber and F. Carlsen, unpublished.

[1] N. Taylor and M. Lauffer, Amer. Chem. Soc. 116th Meeting, Atlantic City, N. J. 1949, Abstract of paper, 18C.

[2] M. Schachman and M. Lauffer, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 536 (1949).

[3] Aided by a grant of the «Eidg. Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes». Present address: Zoologisches Institut der Universität Bern (Schweiz).

Zusammenfassung

Erste Versuche zur Ultrazentrifugierung isolierter Zytoplasmapartikelfraktionen aus Krallenfroschleber (*Xenopus laevis* Daud.) in «Diodon»-Saccharose-Gradienten mit verschiedenen Dichtebereichen zeigen, dass mitochondrien- und mikrosomenartige Zellpartikel in verschiedenen Zonen der Gradienten ins Dichtegleichgewicht gebracht werden können. Die Lage der Partikelzonen in den Gradienten ist abhängig von den gewählten Dichteextremen, woraus abzuleiten ist, dass die Trennung der Fraktionen im wesentlichen durch die Unterschiede in der Partikeldichte bedingt ist. Für die isolierten Mitochondrien wurde so eine Dichte von 1,10 bis 1,20, für die Mikrosomen hingegen eine solche von 1,25 bis 1,30 gefunden.

Hydrogen Peroxide in Tumours

Its Possible Significance in Carcinogenesis

During the last twenty years, we have studied the action of hydrogen peroxide on proteins and high split-products of proteins consisting in an aggregation of molecules with an increase of N precipitable by trichloroacetic acid[1] and of turbidity[2]. This phenomenon was further investigated and called[3] "aggregation effect" of H_2O_2. While formerly we considered such effect as chiefly due to an interaction with an enzymatic system, and therefore corresponding to a true polymerisation, we were lately inclined to admit an oxidation of hydrophilic groups of proteins and peptides molecules and subsequent process of physical aggregation. The formation of S-S-bridges between molecules through oxidation of SH-groups was also taken into consideration.

A relation of this effect of H_2O_2 to similar processes and their importance for the protein synthesis were largely discussed[4].

Yamafuji and coworkers[5] paid great attention to the action of H_2O_2 on proteins, considering it to be a true polymerisation[5]. They think that poisoning catalase in the living organism (e.g. by hydroxylamine), permitting the H_2O_2 formed in the oxidative metabolism of cells to escape destruction by this enzyme, may give rise to polymerisation of some protein constituents and bring about the formation of virus particles. These authors therefore admit an endogenous origin of some virus by means of abnormal H_2O_2 concentration in tissues.

One of the most important features of enzymatic pattern in tumours is represented by a strong decrease of catalase activity. This was first shown by Greenstein and coworkers[6], who studied the activity of some enzymes in rats' hepatomas, in normal and regenerating livers. The relationship between catalase activity in hepatoma and in normal adult liver was 1:1000; whereas the differences concerning other enzymes were much smaller. Regenerating liver has nearly the catalase activity of normal liver. A decrease of catalase activity in livers of tumour-bearing rats was also demonstrated by Greenstein and coworkers, and later throughly investigated by other authors[1]: thus Cudkowicz[2] found a strong decrease of catalase in livers of benzpyrene-treated rats as soon as 60 days after the injection of the hydrocarbon, i.e. before the appearance of a sarcoma at the injection site.

A working hypothesis was advanced by Rondoni[3], who said: "The strong diminution of catalase activity in a tissue may induce an accumulation of H_2O_2 having an aggregation or polymerisation effect on some proteins and high split-products of proteins. Such aggregation effect may be the starting point for that proteins rearrangement, perhaps ultrastructural in nature, which brings about the malignant change in cell" (p. 272).

According to such hypothesis the carcinogenic agents might be considered as catalase poisons: really Cudkowicz found that liver catalase can be partially inhibited *in vitro* by two powerful carcinogenic hydrocarbons (3,4-benzpyrene and methylcholanthrene) dissolved with caffein, and not by some non-carcinogenic hydrocarbons. However, water suspensions of hydrocarbons were in every case devoid of inhibiting activity.

It may be mentioned that according to recent investigations the mode of action of ionising and exciting radiations on cells can be at least partially explained by the formation of hydroxylic radicals from water, i.e. a chemical mechanism involving oxidation reactions and very likely some kind of protein denaturation. Besides this, a formation of H_2O_2 by irradiation of water or aqueous solutions has been found in some experiments[4].

A direct proof of the role of H_2O_2 in carcinogenesis has neither been given nor proposed, so far as we know. Such a demonstration may be very difficult, because the peroxide after formation in sufficient amount to induce the cellular change can be very quickly destroyed in the metabolic pool. However, we have attempted to estimate the contents of H_2O_2 in normal and tumour tissues (rats and mice) by the following method, permitting an approximative and comparative evaluation.

Method.—The animals were killed by bleeding. The tissues were immediately homogenised in an aq. 6·5%-solution of KCN in order to destroy every enzymatic activity. Estimation of dry weight. A 20%-solution of trichloroacetic acid is added (1:1) to the homogenate. After a few minutes filtration through paper, a clear solution is obtained, to a known amount of which some milliliters of a solution of titanium sulphate are added. Such a solution is made by dissolving the titanium salt in warm n H_2SO_4. A yellow colour is developed, which is photometrically (Fischer electrophotometer) checked against a standard (homogenate + trichloroacetic acid + n H_2SO_4 without titanium salt). As the colour changes to some extent, an empirical curve ought to be established for every homogenate (using a part of homogenate where H_2O_2 has been destroyed by silver powder and another with known amount of H_2O_2), in order to evaluate the H_2O_2 contents from the photometric figures.

We must remark that photometric values do not always give a regular straight line, and the colour derived from the reaction $H_2O_2 + Ti_2(SO_4)_3$, which is quite stable in simple water solution, fades away at a different speed in the homogenates.

We may summarize our relative results in the following Tables.

[1] P. Rondoni and L. Pozzi, H. S. Z. phys. Chem. *219*, 22 (1933); *235*, 81 (1935).

[2] P. Rondoni, H. S. Z. phys. Chem. 254, 207 (1938).

[3] P. Rondoni and M. Bassi, Enzymologia *15*, 70 (1951).

[4] P. Rondoni, Ergebn. Enzymforsch. *10*, 65 (1949).

[5] Many papers in Enzymologia *13*, *14*, *15* (1949–1951); see. chiefly *15*, 223 (1952). – K. Yamafuji and K. Rosa, Biochem. Z. *317*, 81 (1944). – K. Yamafuji and F. Yoshihara, Biochem. Z. *317*, 87 (1944). – K. Yamafuji and Y. Shirozu, Biochem. Z. *317*, 94 (1944).

[6] J. P. Greenstein, V. J. Wendell, and J. White, J. nat. Cancer Inst. *2*, 17 (1941). See also: J. P. Greenstein, *Biochemistry of cancer* (Academic Press Inc., New York, 1947.

[1] H. v. Euler and L. Heller, Z. Krebsforsch. *56*, 395 (1949).

[2] G. Cudkowicz, Tumori, *38*, 176 (1952).

[3] P. Rondoni, Boll. Oncologia (Lega ital. per la lotta contro i tumori) *26*, 245 (1952).

[4] C. Biagini, Nuntius radiologicus *18*, 97 (1952) (a review).

Table I

H_2O_2-contents (γ pro 17 mg dry weight) in organs of normal rats and in organs and tumour of rats with transplants of Walker-carcinoma

Rat	Liver	Kidney	Tumour
1 (normal)	2·1	25·0	
2 (normal)	4·8	50·0	
3 (normal)	2·5	45·0	
4 (normal)	3·0	34·0	
5 (Ca 10 days after graft) .	—	—	16·0
6 (Ca 10 days)	1·8	23·0	32·6
7 (Ca 12 days)	1·7	28·5	12·8
8 (Ca 14 days)	3·0	33·0	13·5
9 (Ca 16 days)	4·2	45·0	4·1
10 (Ca 18 days)	4·7	51·3	4·4

Table II

H_2O_2-contents (γ pro 12 mg dry weight) in organs of normal mice and in organs and tumours of mice with transplants of Ehrlich-cancer

Mouse	Liver	Kidney	Tumour
1 (normal)	12	40	
2 (normal)	11·3	53	
3 (normal)	12·7	37	
4 (normal)	10	35	
5 (normal)	6	30	
6 (normal)	9	60	
7 (Ca 10 days after graft)	12	50	12
8 (Ca 10 days after graft)	14	47	13
9 (Ca 10 days after graft)	7	60	13
10 (Ca 10 days after graft)	6	50	11
11 (Ca 13 days)	11	55	5
12 (Ca 13 days)	8	43	6

In all animals the kidney shows the highest contents of H_2O_2, a finding which may be in accord with some old observations of Blaschko[1] that an appropriate concentration of hydroxylamine brings about a strong decrease of respiration of kidney sections, whereas it does not disturb the respiration of testis. A catalase poison exerts a stronger action where H_2O_2 is more largely formed, i.e. in kidney. This organ is a site of the most intense oxidation processes and H_2O_2 may be considered as a result of a very active oxidative metabolism.

In regard to tumours, we find in rats with Walker-Ca some figures which are (rats 5–8) in the same order as those of kidney, always exceeding the amounts found in livers, i.e. in an organ with high metabolic rate. Tumours of rats 9–10, examined after a longer delay after graft and showing more necrotic changes, gave lower values. Ehrlich-cancer of mice seems to possess lower amounts of H_2O_2, tumours show figures of same order as livers (mice 7–10), in one case lower (mouse 11). This finding may be related to the large necrotic changes occuring in such a tumour. The decrease of H_2O_2-contents with extending necrosis of the tumour is a general feature.

A series of H_2O_2-estimations has been started on livers of rats fed dimethylaminoazobenzene and an appropriate deficient diet in order to obtain hepatomas and to compare them with normal livers. A report of such experiments will be given later. We may now anticipate that the livers of 4 rats fed the deficient diet (with carcinogen or without) showed very high contents in the range 18–26 γ after only a month of treatment, i.e. in a quite precancerous condition.

[1] H. Blaschko, J. physiol. *84*, 52 (Proceed.) (1935).

Arguing from the kidney, which evidently has a particular position owing to its high metabolic rate, we may suppose a content of H_2O_2 in tumours which exceeds (in rats), or equals (in mice), that of the liver. This finding may show a rather active oxidative metabolism in tumours, in contrast to the usual assertion of a prevailing anaerobic metabolism. It is difficult to assess the importance of H_2O_2 for carcinogenesis according to the above working hypothesis. The action of this metabolyte may be different in different tissues, according to the equilibrium of catalase-peroxidase, presence of H-donors, structure of cell proteins and protein split product. A more extensive study concerning chemically induced tumours at different stages may give a clearer answer.

P. Rondoni and G. Cudkowicz

Centro per la oncologia sperimentale del C.N.R., Sezione presso l'Istituto del cancro di Milano, March 9, 1953.

Zusammenfassung

Die auf Grund älterer Arbeiten festgestellte «aggregierende Wirkung» des Wasserstoffsuperoxyds auf gewisse Proteinsysteme gestattet die Arbeitshypothese aufzustellen, wonach die bekannte Abnahme der Kataseaktivität im Geschwulstgewebe eine Zunahme des H_2O_2-Gehaltes zur Folge haben dürfte und dadurch zum Umbau gewisser Proteine führen würde, der die Grundlage der krebsigen Umwandlung der Zelle darstellen könnte. Die Bestimmung des H_2O_2-Gehaltes (Titanium-Sulfat-Methode) wurde bei transplantablen Tumoren (Walker-Rattekarzinom und Ehrlich-Mäusekrebs) unternommen. Werte in der Grössenordnung der metabolisch sehr aktiven Organe (Niere, Leber) wurden meistens gefunden. Auch die Lebern einiger mit Dimethylazobenzol und einer mangelhaften Diät gefütterten Ratten wiesen sehr frühzeitig hohe H_2O_2-Werte auf. Die Arbeitshypothese erheischt weitere experimentelle Belege.

Über das Verhalten von Grünalgen bei Einwirkung mehrwertiger Alkohole

Den zahlreichen Untersuchungen über die Wirkung mehrwertiger Alkohole auf die Struktur und die Funktion tierischer Gewebe[1] stehen nur wenige gegenüber, die sich mit dem Einfluss solcher Substanzen auf pflanzliche Zellen beschäftigen.

Nach den Beobachtungen von Loeser und Mitarbeitern[2] wird die Atmung von Hefezellen durch mehrwertige Alkohole – 1,2-Propandiol, 1,3-Butandiol, 1,2,3-Propantriol, 1,2,4-Butantriol – unterschiedlich verändert. Während die untersuchten Substanzen den Sauerstoffverbrauch der Hefe bei *Abwesenheit von Glukose* steigern, schränken dieselben Alkohole bei *Zusatz von Glukose* zur Hefe die Atmung ein. Diese Doppelwirkung ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Hefezelle bei Fehlen von Glukose die Alkohole als Brennmaterial mit heranzieht und sie in Abhängigkeit von der jeweiligen Konstitution – Zahl, Qualität, Stellung der Hydroxylgruppen – verschieden rasch und vollkommen abbaut. Steht den Hefezellen hingegen Glukose – das natürliche Brennmaterial – zur Verfügung, so werden die zugefügten Alkohole nicht angegriffen, sondern ent-

[1] Zusammenfassung der Literatur siehe A. Loeser: Referat: *Lösungsmittel und Lösungsvermittler*, 19. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, Göttingen 1952, Arch. exper. Path. Pharmakol. *218*, 36 (1953).

[2] H. Kleinsorg, C. G. Schmidt und A. Loeser, Arch. exper. Path. Pharmakol. *211*, 235 (1950). – E. Stürmer, unveröffentlichte Versuche.

falten in erster Linie die ihnen eigenen Wirkungen: die Hefezelle wird jetzt durch die Alkohole so verändert, dass sie nicht mehr imstande ist, die ihr angebotene Glukose zu verbrennen bzw. zu spalten. Anders ausgedrückt heisst das: Hefeatmung und Hefegärung werden unter solchen Bedingungen gehemmt. Für diese Wirkung scheint die Konzentration der Alkohole und nicht ihre chemische Konstitution von Bedeutung zu sein.

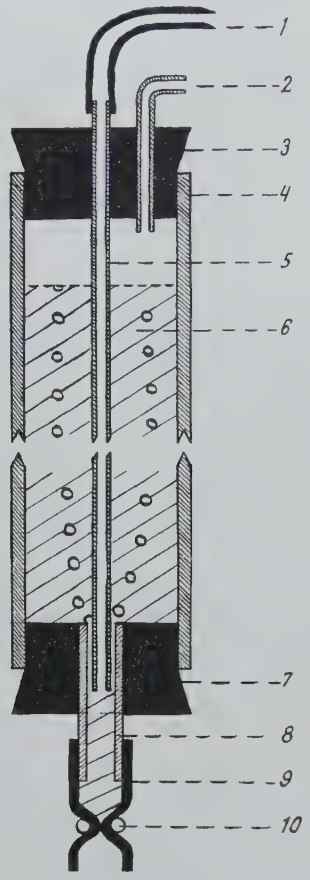


Abb. 1. Kulturröhre, Medianschnitt: *1* = Gaszuleitung, *2* = Gasableitung, *3* = Gummistopfen, *4* = Glasröhre (verkürzt gezeichnet), *5* = Gaseinleitungsrohr, *6* = Chlorellensuspension mit aufsteigenden Gasblasen, *7* = Gummistopfen, *8*, *9* = Glasrohr mit Schlauch zum Ablassen der Chlorellen, *10* = Schlauchklemme. Glas: Eng schraffiert; Gummi: schwarz.

In der vorliegenden Arbeit haben wir das Verhalten von Grünalgen nach Zusatz von 1,3-Butandiol – $CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH_2OH$ – zur Nährflüssigkeit untersucht. Als Vergleichssubstanz diente der dreiwertige Alkohol Glyzerin. Die Versuche wurden in den Monaten November und Dezember 1952 sowie März und April 1953 bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Methodisches. Grünalgen – Reinkulturen von *Chlorella vulgaris* var. *viridis chodat.* aus der Sammlung von Prof. Pringsheim, Cambridge – wurden unter sterilen Bedingungen in einer definierten Nährlösung[1] gezüchtet. Als Lichtquelle diente eine 300-W-Metallfadenlampe mit Wasserkühlung in der Anordnung nach Warburg[2]. Ein Gasgemisch von etwa 95 Vol.% atmosphärischer Luft und 5 Vol.% Kohlensäure – Waschen in $KMnO_4$ und $HgCl_2$, Wattefilter – durchströmte stetig die Nährlösung. Nach etwa vier Tagen konnte das Angrünen der Kulturen beobachtet werden. 1–3 Wochen später hatten sich die Chlorellen so vermehrt, dass das Kulturmedium durch die darin aufgeschwemmten Algen eine satte grüne Farbe zeigte.

Zu diesem Zeitpunkt wurden je 50 ml der Chlorellensuspension zu 1450 ml einer Nährlösung gegeben, der ausser den beschriebenen Substanzen 1,3-Butandiol oder Glyzerin bzw. Aqua dest. (Kontrollen) in so bemessenen Mengen zugesetzt war, dass die Endkonzentration der Alkohole 0,01%, 0,1% bzw. 1,0% in 1500 ml betrug. In senkrecht stehenden Glasröhren – Länge 1300 mm, lichte Weite 38 mm, unten und oben durch Gummistopfen verschlossen, Abbildung 1 – wurden die beschriebenen Versuchsansätze bei ständiger diffuser Scheinwerferbeleuchtung mit dem angegebenen Gasgemisch gleichmässig 24 Tage lang durchströmt. Bestimmungen der Zellzahlen je Milliliter zu Beginn und am Ende des Versuches erfolgten in der Blutkörperchenzählkammer nach Thoma, Fettfärbungen in typischer Weise mit Sudan III. Mikroaufnahmen, deren Wiedergabe den Rahmen dieser Mitteilung überschreiten würde, sind mit einer Leitz-Ölimmersion 90:1 und 10:1 Periplanokularen angefertigt worden.

Ergebnisse. Bei Einwirkung von 1,3-Butandiol oder Glyzerin auf Kulturen von Grünalgen liess sich unter den angegebenen Bedingungen folgendes beobachten:

Bei einer Endkonzentration der beiden Substanzen von 0,1% war nach 24 Tagen die *Zahl der Zellen je Milliliter* um $1{,}4 \cdot 10^9$ (1,3-Butandiol) bzw. um $2{,}7 \cdot 10^9$ (Glyzerin) höher als in den Kontrollansätzen. In den Röhren mit 1%igem 1,3-Butandiol- bzw. Glyzerinzusatz waren $0{,}3 \cdot 10^9$ bzw. $1{,}3 \cdot 10^9$ Zellen je Milliliter mehr als gewöhnlich. Bei der *mikroskopischen Untersuchung* fanden sich im Vergleich zu den Kontrollen in den Ansätzen mit 0,1% 1,3-Butandiol bzw. Glyzerin mehr in Teilung begriffene Zellen sowie vermehrt junge Zellen; ausserdem waren in zahlreichen Zellen sudanpositive Inhaltströpfchen zu erkennen. Weniger zahlreiche, dafür erheblich grössere, ebenfalls sudanpositive Inhaltstropfen wurden in den Zellen der Ansätze mit 1% 1,3-Butandiol bzw. Glyzerin gefunden. In vielen Fällen erschien hier der Chromatophor sichelförmig an die Zellwand gedrängt. Gegenüber den Kontrollen zeigten die Chlorellen aus 0,01%igen Ansätzen keine eindeutigen Veränderungen.

Die mikroskopischen Befunde liessen sich in einem weiteren Versuch gleicher Anordnung reproduzieren. Eine stärkere Vermehrung der Algen trat hier allerdings schon bei Aufzucht in 0,01%igen Ansätzen auf, während bei Zusatz von 0,1% und 1,0% 1,3-Butandiol bzw. Glyzerin eine Abnahme der Zellzahl nachgewiesen wurde, so dass an die Möglichkeit jahreszeitlich bedingter Einflüsse gedacht werden muss.

Fräulein Dr. M. Meffert, Kohlenstoffbiologische Forschungsanstalt e.V., Essen, sei für die Überlassung der Kulturen und für Ratschläge zur Aufzucht, Herrn Dozent Dr. E. Perner, Botanisches Institut der Universität Münster, für die Durchsicht der Präparate und Herrn Dozent Dr. N. Schümmelfeder, Pathologisches Institut der Universität Münster, für seine Bemühungen bei den Mikroaufnahmen gedankt.

Linde Grosskinski, E. Stürmer und A. Loeser

Pharmakologisches Institut der Universität Münster i. W., den 8. Mai 1953.

Summary

Green algae cultured for 24 days in a medium with addition of 1·3 butandiol or glycerol, showed reproducible changes of their fine structure, and an influencing of the cell number.

[1] Nährlösung für Chlorellen: 0,57 g KNO_3; 0,16 g KH_2PO_4; 0,09 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$; 5,56 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$; 10,44 mg Natriumzitrat; 2,86 mg H_3BO_3; 1,81 mg $MnCl_2 \cdot 4\,H_2O$; 0,22 mg $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$; 0,08 mg $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$; 0,016 mg Ammoniummolybdat; 4,3 mg $CaSO_4 \cdot 2\,H_2O$ ad 1000 ml Aqua dest.

[2] O. Warburg, Biochem. Z. *100*, 230 (1919).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Gesteine und Minerallagerstätten

II. Band

Exogene Gesteine und Minerallagerstätten

Lehrbücher und Monographien aus dem Gebiete der exakten Wissenschaften

Mineralogisch-Geotechnische Reihe III

Von P. Niggli

unter Mitarbeit von Ernst Niggli

557 Seiten, 181 Figuren, 67 Tabellen

(Verlag Birkhäuser, Basel 1952)

(br. Fr. 45.25, geb. Fr. 49.40)

Die Gliederung dieses zweiten, noch zu Lebzeiten des Verfassers erschienenen Bandes des dreiteiligen Lehrwerkes war in grossen Zügen schon im ersten Band festgelegt: I. *autochthone Verwitterungslagerstätten und Gesteine*, untergeteilt in A. Die Verwitterung; B. Die Böden; II. *Die Sedimente*, gegliedert in A. Trümmersedimente, klastische Gesteine; B. Pelite, Gelite, Humite und verwandte Gesteine (tonige Pelite, Sapropelite, Saprosulfopelite, Humite, Fe-Mn-Si-Hydrogelite); C. Carbonatgesteine; D. Sedimentäre Phosphatlagerstätten; E. Sulfat- und Chloridgesteine und verwandte Salzablagerungen. Evaporite; F. Schnee und Eis; G. Die petrographischen Provinzen der sedimentären Abfolgen.

Zwar weicht diese Einteilung in einigem von der gebräuchlichsten ab, doch keineswegs so grundsätzlich, wie die für den dritten Band vorgesehene. Mehr noch wird die Ausrichtung der ganzen Darstellung bestimmt durch die konsequent durchgeführte Vorwegbehandlung der allgemeinen Prinzipien und Zusammenhänge, gemeinsam für die Gesteine aller Abfolgen im ersten Band. Als Beispiel dafür, wie weit in dieser Hinsicht mitunter gegangen wurde, sei erwähnt, dass dort Begriffe wie Bankung, Schichtung, Flöz, Diskordanz, Konkordanz (wie andererseits Gang, Salband, Apophysen, Miarolith) eingeführt werden bei völliger Beschränkung auf das Morphologische, also unter bewusstem Absehen von jeder genetischen Interpretation. Die Schwierigkeiten bei solchem Vorgehen müssen noch verstärkt werden durch das Bestreben, den einzelnen Bänden möglichste Selbständigkeit zu verleihen. Dank der wohldurchdachten Gesamtplanung ist es aber doch gelungen, ausgesprochene Wiederholungen fast ganz zu vermeiden; so ergibt sich nunmehr doch eine bedeutende Entlastung.

Der zweite Band beschäftigt sich nicht in gleichem Masse wie die beiden anderen mit Gegenständen zentraler Stellung innerhalb der Forschungsarbeit des Verfassers und seines Mitarbeiters. Bei aller Anerkennung der auch hier zum Ausdruck kommenden imponierenden Vielseitigkeit und Weite wird man also naturgemäss mit einer etwas zurückhaltenderen und kritischeren Einstellung zu diesem Teil des Werkes rechnen müssen. Doch war von vornherein zu erwarten, dass auch hier die Darstellung sich keineswegs in einem korrekten Referieren erschöpft. Wie bei anderen seiner Lehrbücher und Monographien ist Niggli auch hier vor allem bemüht um das Herausschälen der Zusammenhänge, bei intensivster gedanklicher Verarbeitung des gesamten Materials. So fällt die Eindringlichkeit auf, mit der alle Fragen und Möglichkeiten der Gliederung, Verwandtschaft und Abgrenzung diskutiert werden. Besonders bezeichnend scheint dem Verfasser in dieser Hinsicht das der Anwendung der provinziellen Betrachtungsweise auf die exogenen Bildungen gewidmete Schlusskapitel; vielleicht weil bei dem Ringen mit der gegen entsprechenden Gliederungsversuchen so spröden Materie das Hauptanliegen des Verfassers am deutlichsten sich offenbart. Aber auch sonst geht es Niggli sichtlich in erster Linie um den den Gliederungen als solchen innewohnenden Erkenntniswert (nicht nur um das Aufstellen von Reihungen oder Fachwerken zur übersichtlichen Darstellung und Erfassung des Gedankengutes). Aufbauend auf allgemeingültigen Prinzipien soll das Gefüge des Gegenstandes in einer dem menschlichen Fassungsvermögen angepassten Weise aufgezeigt werden. Die grosse Aufgabe verpflichtet zu einer gewissen Kompromisslosigkeit, der sich Niggli selbst durchaus bewusst ist und die er im Vorwort dieses Bandes als Eigenwilligkeit bezeichnet. Sie verbietet es auch, einzelne – an sich einschlägige – Stoffgebiete, in Rücksicht auf Konvention bzw. nur historisch zu verstehende Zuständigkeitsgrenzen des eigenen Faches, ganz auszuklammern oder durch gelegentliche Hinweise abzutun. So wird also auch den Böden, den durch die Verwitterung entstandenen wässrigen Lösungen, den Mooren, Eis und Schnee jeweils in eigenen Kapiteln und Abschnitten ein angemessener Raum zugewiesen.

Die den grossen Systematiker und Morphologen kennzeichnende Grundhaltung schliesst auch bei diesem Werk nicht aus, dass der kausalgesetzlichen Erklärung der Abläufe und Erscheinungen überall nachgegangen wird. Dabei bedient sich der Verfasser der grössten Exaktheit der Darstellung und des Ausdrucks, soweit angängig unter Verwendung mathematischer Formulierung. Nachdem im ersten Band schon wichtige theoretische Vorarbeit geleistet wurde (zum Beispiel in den Artikeln über die Anwendung der Statistik, über die granulometrische Analyse, über die chemographischen Beziehungen), spricht sich dies im zweiten Band am stärksten aus in der sehr eingehenden Besprechung der den fluviatilen Geschiebetransport und die Sinkgeschwindigkeit in ruhenden Medien beherrschenden Gesetzmässigkeiten.

Zu den einzelnen Kapiteln eingehender Stellung zu nehmen, muss jeweils den Spezialisten vorbehalten bleiben. Sollten auch in Einzelheiten Ausstellungen erfolgen, so wird doch jedermann, allein schon in Anbetracht des besonderen Aufbaus und Charakters des Werkes, dem Verfasser beipflichten, wenn er – wohl auch im Hinblick auf mehrere, besonders im englischen Sprachgebiet neuerschienene sediment-petrographische Werke – am Ende des Vorworts meint, dass auch eine sich nicht auf ausgesprochene Spezialisierung stützende Darstellung für das Herausstellen der Zusammenhänge erwünscht sein werde.

Eine besondere Prägung erhält das Werk ausserdem durch häufiges Heranziehen alpiner Beispiele und betontes Berücksichtigen der neuesten europäischen Forschungsergebnisse überhaupt. Auch auf technische Fragen wird, wo nötig, eingegangen. Zusammenstellungen chemischer Analysen (sofern in Betracht kommend mit Umrechnungen in Niggliwerte) sind den Besprechungen der einzelnen Gesteinsgruppen stets beigegeben. Auch sonst erleichtern viele Tabellen, Diagramme und andere grösstenteils neuentworfene Figuren die Übersicht und das Eindringen; wie denn überhaupt die sorgfältige Ausstattung dieses Bandes der des ersten durchaus entspricht.

Man darf wohl hoffen, dass trotz des jähen Hinscheidens des Verfassers das Erscheinen des dritten und letzten seinem Hauptarbeitsgebiet gewidmeten Bandes gesichert ist.

E. Baier

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Quelques acquisitions récentes sur les glandes endocrines des Arthropodes

Par M. Gabe, Paris[1]

Le nombre des travaux morphologiques et physiologiques récents, consacrés à l'endocrinologie des Arthropodes, témoigne éloquemment du progrès accompli, depuis une vingtaine d'années, dans la connaissance des corrélations humorales chez ces animaux. La solidité de certains travaux anatomiques et l'éclat de certaines recherches expérimentales ne doivent, cependant, pas faire oublier les limites de nos connaissances.

En effet, la réalité de sécrétions hormonales a été prouvée, au moyen de techniques physiologiques, uniquement chez quelques Insectes Ptérygotes et chez quelques Crustacés Décapodes. Tous les Insectes étudiés à ce point de vue possèdent au moins l'une des formations glandulaires dont la fonction endocrine a pu être démontrée dans quelques cas favorables et tous les Crustacés Malacostracés sont dotés des formations céphalothoraciques dont le rôle endocrine a été démontré expérimentalement chez quelques Décapodes. L'étude histologique apporte de sérieuses présomptions en faveur de la nature endocrine de la formation décrite chez les Chilopodes sous le nom d'*organe frontal*[2] ou de *glande cérébrale*[3]. Il n'existe, par contre, aucune donnée morphologique ou physiologique relative à une éventuelle glande endocrine chez les Crustacés Entomostracés, chez les Progonéates et chez les Chelicérates.

L'étude des travaux histologiques et physiologiques récents fait apparaître une particularité commune à toutes les formations endocrines connues chez les Arthropodes, à savoir leurs rapports, anatomiques ou fonctionnels, avec des cellules situées au sein des centres nerveux ou à leur contact immédiat, cellules dont les caractères morphologiques sont ceux de cellules neurosécrétrices au sens de Scharrer[4]. La constance des rapports anatomiques entre les glandes endocrines des Arthropodes et des cellules neuro-sécrétrices, ainsi que la netteté des relations fonctionnelles, déjà démontrées dans quelques cas, soulignent l'intérêt primordial de cette question; une revue sommaire des faits acquis dans cet ordre d'idées doit donc paraître opportune.

a) Les corpora cardiaca des Insectes Ptérygotes

Les connexions anatomiques des corpora cardiaca avec des cellules situées dans la pars intercerebralis du protocerebron sont bien connues depuis le mémoire fondamental de Hanström[5]; ce même travail apporte des précisions relatives au caractère neuro-sécréteur des cellules d'origine du nervus corporis cardiaci I. Hanström établit, en se fondant sur des données tirées de l'anatomie comparée, un rapprochement entre les cellules neurosécrétrices de la pars intercerebralis et l'organe frontal pair des Crustacés.

Il y a lieu de remarquer que la présence de cellules neuro-sécrétrices dans la pars intercerebralis du protocerebron et au voisinage des corpora pedunculata est loin de représenter une simple particularité anatomique, dépourvue de portée physiologique. En effet, l'intervention des ganglions cérébroïdes dans la métamorphose a été démontrée chez les Lépidoptères[1]; les recherches classiques de Wigglesworth[2] prouvent le rôle des ganglions cérébroïdes dans le développement post-embryonnaire de *Rhodnius prolixus*. Des facteurs issus des ganglions cérébroïdes interviennent dans la métamorphose de *Calliphora eryhtrocephala*[3]. D'autre part, des expériences d'ablation élective des cellules neurosécrétrices du protocerebron conduisent Thomsen[4] à attribuer aux éléments en question un rôle important dans la physiologie de l'imago chez *Calliphora erythrocephala*. Des substances actives sur les mouvements des mélanophores prendraient également naissance dans les ganglions cérébroïdes des Insectes[5]; il est probable que ces substances sont élaborées par les cellules neurosécrétrices.

Or, les recherches récentes soulignent l'existence de rapports très étroits entre les cellules neuro-sécrétrices du protocerebron et les corpora cardiaca, organes dont la nature endocrine est admise depuis une quinzaine d'années, mais dont le rôle n'a pas encore été précisé de façon indiscutable.

α) La réalité d'un transport de substance des cellules neuro-sécrétrices de la pars intercerebralis vers les corpora cardiaca a été reconnue par Hanström[6] et confirmée par E. et B. Scharrer[7]; l'application de la coloration à l'hématoxyline chromique-phloxine suivant Gomori en permet une mise en évidence particulièrement nette chez les Ephéméroptères[8], chez les Odonates[9], chez des Blattes[10], chez *Gryllus domesticus*, chez *Carausius morosus* et chez *Dytiscus marginalis*[11]. Le cheminement du produit de sécrétion se fait, chez tous les insectes étudiés à ce point de vue, le long des axones et les aspects sont identiques à ceux qui ont été décrits chez les Vertébrés.

β) L'étude des variations de cette sécrétion en fonction du développement post-embryonnaire démontre que le maximum d'abondance du produit de sécrétion dans les péricaryones des cellules neuro-sécrétrices précède l'accumulation maxima dans les corpora cardiaca. Cette chronologie de la sécrétion, particulièrement nette

[1] Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées, Université de Paris.

[2] N. Holmgren, *Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. 56*, 1 (1916).

[3] K. Fahlander, Zool. Bidr. Uppsala *17*, 1 (1938).

[4] E. Scharrer, Z. Neurol. *145*, 462 (1933).

[5] B. Hanström, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *18*, 1 (1940).

[1] St. Kopec, Biol. Bull. *42*, 323 (1922). – J. J. Bounhiol, Bull. biol. France Belgique, suppl. *24*, 200 (1938). – A. Kühn et coll., Bibliographie dans Rehm. – C. M. Williams, Biol. Bull. *90*, 234 (1946).

[2] V. B. Wigglesworth, J. exp. Biol. *17*, 201 (1940).

[3] B. Possompès, C. r. Acad. Sci. *231*, 594 (1950); Arch. Zool. exp. gén. *89*, 203 (1953).

[4] E. Thomsen, J. exp. Biol. *29*, 137 (1952).

[5] M. Dupont-Raabe, C. r. Acad. Sci. *228*, 130 (1948). – E. Hadorn et R. Frizzi, Rev. suisse Zool. *56*, 306 (1949).

[6] B. Hanström, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *18*, 1 (1940).

[7] E. Scharrer et B. Scharrer, Biol. Bull. *87*, 242 (1944).

[8] L. Arvy et M. Gabe, La Cellule *55*, 203 (1953).

[9] L. Arvy et M. Gabe, Ann. Sci. nat. Zool. *1952* (sous presse).

[10] B. Scharrer, Anat. Rec. *111*, 554 (1951).– F. Stutinsky, Bull. Soc. zool. France *77*, 61 (1952).

[11] F. Stutinsky, Bull. Soc. zool. France *77*, 61 (1952).

chez les Ephéméroptères[1] et chez les Odonates[2] parmi les Amétaboles, chez *Bombyx mori* parmi les Holométaboles[3] démontre clairement que le produit colorable par l'hématoxyline chromique de Gomori chemine bien des cellules neuro-sécrétrices vers les corpora cardiaca; elle suffirait pour faire rejeter l'hypothèse d'une «neurosécrétion» au sens de Collin, avec migration du produit des corpora cardiaca vers le protocerebron. Les résultats de la section des nervi corporis cardiaci[4] en apportent la preuve expérimentale: à la suite de cette intervention, le corpus cardiacum dont les nerfs ont été sectionnés est complètement dépourvu de substance colorable en bleu par l'hématoxyline chromique. Il y a lieu de souligner, à ce sujet, que le produit de sécrétion des cellules neurosécrétrices s'accumule toujours entre les cellules propres des corpora cardiaca et ne pénètre jamais à leur intérieur sous une forme figurée.

γ) Il existe, d'autre part, un rapport entre la sécrétion des cellules neuro-sécrétrices et les dimensions des corpora cardiaca. C'est ainsi que chez les Insectes Paléoptères (Ephéméroptères et Odonates) l'activité sécrétoire des cellules de la pars intercerebralis et des groupes neuro-sécréteurs latéraux atteint son maximum à la fin du dernier stade larvaire; les corpora cardiaca subissent, peu de temps après, une augmentation considérable de volume. Cet accroissement des corpora cardiaca coïncide avec le maximum d'abondance de matériel neuro-sécrétoire dans ces organes, mais l'accumulation du produit de sécrétion ne suffit pas pour expliquer l'augmentation de volume en question. L'étude volumétrique des corpora cardiaca chez un Lépidoptère, *Ephestia kühniella*, montre des faits du même ordre. En effet, d'après les données numériques de Rehm[5], le volume des corpora cardiaca passe de 306 μ^3 au début du dernier stade larvaire à 884 μ^3 à la fin de la période critique. Or, le même auteur signale, sans insister sur une relation éventuelle entre les deux phénomènes, que le matériel neurosécrétoire est particulièrement abondant dans les cellules de la pars intercerebralis chez les chenilles au début du dernier âge larvaire et qu'il en est «éliminé» au début de la période critique. L'étude de la neuro-sécrétion au cours du développement post-embryonnaire chez *Bombyx mori*[3] montre d'une part que le produit des cellules neuro-sécrétrices quitte les péricaryones sous une forme figurée en cheminant le long des axones, fait qui avait été nié par Rehm chez *Ephestia*, d'autre part que chaque «poussée de sécrétion» des cellules neurosécrétrices est suivie d'une augmentation du volume des corpora cardiaca.

δ) L'augmentation de volume du corpus cardiacum aux derniers stades du développement des Insectes Paléoptères coïncide avec l'apparition, dans les cellules propres de cet organe, d'une sécrétion différente de celle des éléments neuro-sécréteurs, situés dans les ganglions cérébroïdes. En effet, le produit de sécrétion de ces cellules est dissous par les fixateurs à base d'alcool, alors que celui des corpora cardiaca est parfaitement conservé dans les mêmes conditions techniques; d'autre part, l'hématoxyline chromique-phloxine colore l'un de ces produits en bleu, l'autre en rouge.

Il y a donc lieu d'admettre, avec Scharrer[6] que les cellules neuro-sécrétrices du protocerebron et les corpora cardiaca représentent deux composantes d'un même système d'organes. Par contre, la démonstration d'une sécrétion propre des corpora cardiaca interdit de considérer ces organes comme un simple «centre de stockage», ainsi que le veut Scharrer. Dès lors, les relations entre les cellules neuro-sécrétrices du protocerebron et les corpora cardiaca admettent deux hypothèses. On pourrait penser que le produit des cellules neuro-sécrétrices joue, à côté d'autres rôles, celui d'une stimuline à l'égard des corpora cardiaca. Il se pourrait, d'autre part, que le produit de sécrétion décelable dans les cellules des corpora cardiaca résulte d'une transformation plus ou moins profonde du produit des cellules neurosécrétrices, parvenu jusqu'aux corpora cardiaca en cheminant le long des axones. L'absence constante de produit neurosécrétoire, colorable en bleu par l'hématoxyline chromique de Gomori, au sein même des cellules des corpora cardiaca, est un indice en faveur de la première hypothèse.

b) Les corpora allata des Insectes Ptérygotes

Le rôle des corpora allata dans le développement postembryonnaire et au cours de la vie imaginale a été démontré, chez un certain nombre d'Insectes, au moyen d'expériences indiscutables et Hanström pouvait affirmer, dès 1940, que ces organes étaient les mieux connus parmi les glandes endocrines des insectes[1]. Leurs relations avec des cellules neuro-sécrétrices sont beaucoup moins nettes que celles des corpora cardiaca et Scharrer estime[2] que la stimulation des corpora allata larvaires par des cellules neuro-sécrétrices n'a pas encore été mise en évidence. En réalité, il existe des indices en faveur de cette stimulation.

Le cas des Insectes Paléoptères est particulièrement suggestif à cet égard. On sait, en effet, que les corpora allata des Ephéméroptères sont innervés par le ganglion sous-œsophagien[3] alors que ceux des Odonates reçoivent leurs nerfs des corpora cardiaca, c'est-à-dire du protocerebron[4]. Or, les cellules d'origine des nervi corporis allati des Ephéméroptères sont des cellules neuro-sécrétrices[5], dont l'activité sécrétoire cesse à la fin de la vie nymphale[6]; les corpora allata de ces Insectes subissent, au cours des derniers stades du développement postembryonnaire, une véritable atrophie[7]. Les corpora allata des Odonates sont, au contraire, reliés aux cellules neuro-sécrétrices de la pars intercerebralis, dont l'activité s'accroît considérablement à l'approche de la mue imaginale; cet accroissement d'activité coïncide avec une augmentation importante du volume des corpora allata[8].

Les données relatives à l'évolution des formations endocrines chez *Ephestia kühniella*[9] sont en accord avec cette manière de voir; en effet, l'accroissement des corpora allata chez la chrysalide âgée, au moment de la maturation des gonocytes, est précédée de peu d'une poussée de sécrétion des cellules de la pars intercere-

[1] L. Arvy et M. Gabe, La Cellule *55*, 203 (1953).
[2] L. Arvy et M. Gabe, Ann. Sci. nat. zool. *1952* (sous presse).
[3] L. Arvy, J. J. Bounhiol et M. Gabe, C. r. Acad. Sci. *1953* (sous presse).
[4] B. Scharrer, Biol. Bull. *102*, 61 (1952).
[5] M. Rehm, Arch. Entwicklungsmech. *145*, 205 (1951).
[6] B. Scharrer, Pflügers Arch. *255*, 154 (1952).

[1] B. Hanström, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *16* 1 (1940).
[2] B. Scharrer, Pflügers Arch. *255*, 154 (1952).
[3] B. Hanström, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *18*, 1 (1940). – O. Pflügefelder, Biol. Zbl. *66*, 211 (1947). – L. Arvy et M. Gabe, Bull. Soc. zool. France *75*, 267 (1950); La Cellule *55*, 203 (1953).
[4] B. Hanström, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *18*, 1 (1940). – L. Arvy et M. Gabe, Ann. Sci. nat. Zool. *1952* (sous presse).
[5] L. Arvy et M. Gabe, Bull. Soc. zool. France *77*, 229 (1952).
[6] L. Arvy et M. Gabe, La Cellule *55*, 203 (1953).
[7] L. Arvy et M. Gabe, Bull. Soc. zool. France *75*, 267 (1950); La Cellule *55*, 203 (1953).
[8] L. Arvy et M. Gabe, Ann. Sci. nat. Zool. *1952* (sous presse).
[9] M. Rehm, Arch. Entwicklungsmech. *145*, 205 (1951).

bralis. L'application de méthodes suffisamment électives à l'étude de la neuro-sécrétion chez *Bombyx mori* montre, d'autre part[1], que le produit de sécrétion des cellules neuro-sécrétrices parvient jusqu'aux corpora allata et s'accumule entre les cellules de ces organes lors des poussées de sécrétion qui correspondent à la période préparatoire à la nymphose et à certaines périodes de la vie nymphale; cette «arrivée» du produit de la pars intercerebralis est suivie d'une nette augmentation de volume des corpora allata.

Cette manière de voir ne peut, toutefois, être adoptée sans réserve et il ne saurait être question de la généraliser à tous les Insectes Ptérygotes. En effet, la section unilatérale des nervi corporis cardiaci, pratiquée chez la blatte *Leucophea maderae*[2] est suivie d'une augmentation de volume du corpus allatum énervé; il n'existe aucun indice d'hypofonctionnement du corpus allatum à la suite de cette intervention.

c) La glande ventrale (prothoracique) des Insectes Ptérygotes

On désigne sous le nom de «glande ventrale» un organe céphalique, pair et symétrique, découvert par Pflugfelder[3] chez les Phasmides et retrouvé par le même auteur[4] chez l'ensemble des Ptérygotes amétaboles, à l'exception des Mantes et des Hémiptères. Un organe de même signification, mais situé dans le prothorax, existe chez les Blattes, les Grillons, les Hémiptères, les Lépidoptères et les Hyménophères; on admet généralement que les parties latérales de l'anneau de Weismann des Diptères Cyclorrhaphes seraient l'homologue de cette glande.

L'étude histologique montre, dans tous les cas étudiés à ce point de vue, que la formation en question subit, au cours de la nymphose des Holométaboles ou au moment de la mue imaginale des Amétaboles, une atrophie qui va jusqu'à la disparition. Des données expérimentales très précises, obtenues chez des Lépidoptères[5], chez un Hémiptère, *Rhodnius prolixus*[6], et chez un Diptère Cyclorrhaphe, *Calliphora erythrocephala*[7], démontrent l'intervention de cet organe dans la métamorphose des Insectes holométaboles.

L'expérimentation prouve que le fonctionnement de cette glande est contrôlé par les cellules neuro-sécrétrices de la pars intercerebralis; cette intervention du protocerebron, qui est indispensable à l'entrée en fonction de la glande prothoracique des Lépidoptères et de celle de *Rhodnius*, s'exercerait, chez ces animaux, par voie humorale, et le terme d'«hormone prothoracotrope» a été proposé pour désigner le principe responsable de cette action[8]. Chez *Calliphora*, l'intégrité des connexions anatomiques entre le protocerebron et l'anneau de Weismann semble indispensable à l'acquisition, par les parties latérales de ce dernier organe, de leur action sur la pupaison[9].

A côté de cette relation fonctionnelle entre la glande prothoracique et les cellules neuro-sécrétrices du protocerebron, des recherches histophysiologiques sur les Insectes Paléoptères[1] fournissent des indices en faveur d'une relation anatomique et fonctionnelle entre la glande ventrale et des cellules neuro-sécrétrices situées dans le ganglion sous-œsophagien. En effet, l'innervation de la glande ventrale est assurée, chez les Ephéméroptères, par les nervi corporis allati, venus du ganglion sous-œsophagien; chez les Odonates, les nerfs de la glande ventrale viennent directement du ganglion sous-œsophagien. Or, les neurones d'origine de ces nerfs sont indiscutablement des cellules neuro-sécrétrices chez tous les Ephéméroptères étudiés à ce point de vue et l'atrophie de la glande ventrale est précédée de peu du tarissement de la sécrétion dans ces cellules[2]. Chez les Odonates, l'évolution des cellules neuro-sécrétrices du ganglion sous-œsophagien et l'atrophie de la glande ventrale présentent les mêmes rapports chronologiques que chez les Ephéméroptères, mais les connexions anatomiques sont moins nettes[3].

Il y a donc lieu d'admettre la réalité de corrélations fonctionnelles entre les cellules neuro-sécrétrices du protocerebron et l'organe responsable de la sécrétion de l'«hormone de mue» chez les Lépidoptères, chez un Hémiptère et chez un Diptère cyclorrhaphe; des arguments d'ordre histophysiologique incitent à envisager, en plus, des relations anatomiques et fonctionnelles entre la glande ventrale des Insectes Paléoptères et des cellules neuro-sécrétrices situées dans le ganglion sous-œsophagien.

d) L'organe X et la glande du sinus des Crustacés Malacostracés

Dans les premières années qui suivirent la découverte de la glande du sinus et de l'organe X des Crustacés Décapodes, Stomatopodes et Mysidacés par Hanström[4], la plupart des auteurs attribuèrent à la glande du sinus l'élaboration des principes actifs sur les mouvements des chromatophores, ainsi que la sécrétion des corps qui interviennent dans le déterminisme des mues, dans la maturation des produits génitaux et dans le déroulement de divers processus métaboliques. Le rôle de l'organe X paraissait plus énigmatique et Hanström faisait remarquer en 1947[5] que l'hypothèse de la nature endocrine de cette formation n'était étayée que par des arguments d'ordre histologique. Des recherches récentes ont largement précisé nos connaissances et montré l'existence de rapports très étroits entre l'organe X et la glande du sinus.

α) L'organe X a été considéré, dès sa découverte, comme une formation neuro-sécrétrice; son étude chez un grand nombre de Crustacés a montré à Hanström[6] toutes les étapes de sa différenciation à partir d'un organe sensoriel (organe frontal pair) dont les cellules nerveuses bipolaires évoluent en cellules glandulaires. Le produit de sécrétion de l'organe X se comporte comme celui des cellules neuro-sécrétrices des Insectes; il prend l'hématoxyline chromique dans les conditions techni-

[1] L. Arvy, J. J. Bounhiol et M. Gabe, C. r. Acad. Sci. *1953* (sous presse).
[2] B. Scharrer, Biol. Bull. *102*, 61 (1952).
[3] O. Pflügfelder, Z. wiss. Zool. *151*, 149 (1938).
[4] O. Pflügfelder, Biol. Zbl. *66*, 211 (1947).
[5] J. J. Bounhiol, Bull. biol. France Belgique, suppl. *24*, 200 (1938). – T. Fukuda, Proc. Imp. Akad. Tokyo *16*, 414 (1940). – C. M. Williams, Biol. Bull. *93*, 89 (1947).
[6] V. B. Wigglesworth, Nature *168*, 558 (1951).
[7] B. Possompès, C. r. Acad. Sci. *230*, 409 (1950).
[8] B. Scharrer, Pflügers Arch. *255*, 154 (1952).
[9] B. Possompès, C. r. Acad. Sci. *231*, 594 (1950).

[1] L. Arvy et M. Gabe, Bull. Soc. zool. France *75*, 267 (1950); *77*, 229 (1952); La Cellule *55*, 203 (1953); Ann. Sci. nat. Zool. *1952* (sous presse).
[2] L. Arvy et M. Gabe, Bull. Soc. zool. France *77*, 229 (1952); La Cellule *55*, 203 (1953).
[3] L. Arvy et M. Gabe, Ann. Sci. nat. Zool. *1952* (sous presse).
[4] B. Hanström, Psychiatr. Neurol. Bladen, Amsterdam *4*, 3 (1934); Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *16*, 1 (1937).
[5] B. Hanström, Kungl. Fysiogr. Sällsk. Hdl., N.F. *58*, n° 9 (1947).
[6] B. Hanström, Kungl. Fysiogr. Sällsk. Hdl., N. F. *52*, n° 4 (1941).

ques de la méthode de GOMORI[1] et cette coloration, ainsi que l'observation au microscope à contraste de phase[2] permettent de suivre le cheminement des granules de sécrétion le long du volumineux nerf de l'organe X, jusqu'à la glande du sinus, où ces granules s'accumulent.

β) L'extirpation élective de l'organe X permet de reproduire, chez les Décapodes Brachyoures, les modifications du cycle d'intermue qui surviennent après ablation des pédoncules oculaires[2]; les modifications métaboliques consécutives à l'ablation des deux pédoncules oculaires peuvent être prévenues par implantation de l'organe X[3]. D'autre part, l'ablation de l'organe X ou la section du nerf qui le relie à la glande du sinus[4] entraînent une véritable atrophie de ce dernier organe. Certains auteurs en ont conclu que la glande du sinus n'était qu'un «centre de stockage» des «hormones pédonculaires», élaborées par l'organe X[5]; cette opinion est d'autant plus compréhensible que tous les produits de sécrétion présents dans la glande du sinus se colorent en bleu par l'hématoxyline chromique de GOMORI.

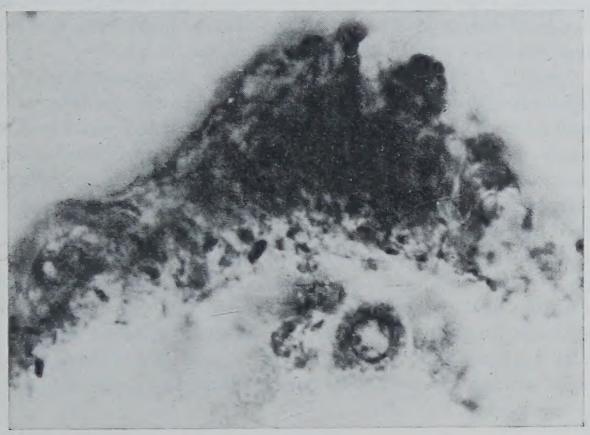


Fig. 1. Corpus cardiacum du subimago d'*Ecdyonurus fluminum* Pictet. Bouin, hématoxyline chromique-phloxine. 1000 diamètres. Remarquer le produit noir (en bleu sur la préparation) venu des cellules neuro-sécrétrices, ainsi que le produit de sécrétion propre du corpus cardiacum, coloré en gris (en rouge sur la préparation) [d'après ARVY et GABE, La Cellule *55*, 203 (1953)].

γ) L'étude histochimique démontre que le produit de sécrétion de l'organe X contient une substance hotchkiss-possitive (glucide oxydable en 1-2-glycol par l'acide periodique ou amino-alcool) chez tous les Crustacés Malacostracés étudiés à ce point de vue[6]. Cette technique permet de suivre le cheminement du produit de sécrétion le long du nerf de l'organe X et jusque dans la glande du sinus, où il s'accumule sous forme de traînées et de grains. Mais elle met en évidence une différence chimique entre ce produit et les grains de sécrétion éosinophiles de la glande du sinus ; ces derniers ne contiennent pas de produit hotchkiss-positif. Il y a d'ailleurs lieu de remarquer que même l'examen attentif des préparations

Fig. 2. Glande du sinus d'*Eupagurus bernhardus* L Formol, réaction de HOTCHKISS-MAC MANUS après action de l'amylase salivaire, coloration de fond par l'hématoxyline-picro-indigocarmin. 1000 diamètres. Remarquer les grains de sécrétion propres de la glande du sinus, colorés en gris (en jaune sur la préparation) et le produit originaire de l'organe X, coloré en noir (en rouge sur la préparation).

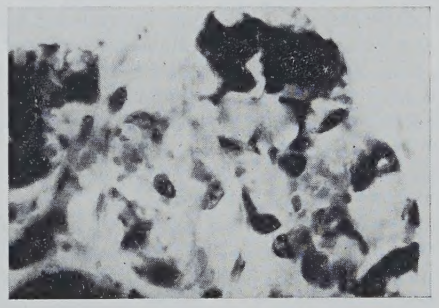


Fig. 3. Lobule de la glande cérébrale de *Scolopendra cingulata* Latr. Bouin, triple coloration de PRENANT. 1000 diamètres. Remarquer le produit de sécrétion propre, coloré en noir (en rouge sur la préparation) et le matériel neuro-sécrétoire, placé entre les cellules et coloré en gris (en vert sur la préparation).

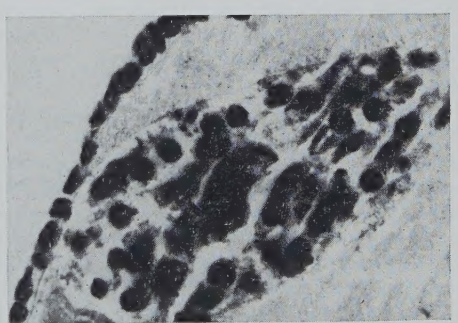


Fig. 4. Glande cérébrale de *Lithobius forficatus* L. Bouin, Azan. 1000 diamètres. Remarquer le produit de sécrétion propre de l'organe, coloré en noir et intra-cellulaire (en rouge sur la préparation) ainsi que le matériel neuro-sécrétoire, coloré en gris (en bleu sur la préparation).

colorées par les méthodes trichromiques usuelles permet de distinguer ces deux produits de sécrétion dans la glande du sinus. Cette dualité du matériel sécrétoire accumulé dans la glande du sinus est encore soulignée par le fait que les deux produits se comportent différem

[1] D. E. BLISS, Anat. Rec. *111*, 554 (1951). – D. E. BLISS et. J. H. WELSH, Biol. Bull. *103*, 157 (1952). – L. V. PASSANO, Anat. Rec. *111*, 502 (1951).

[2] L. V. PASSANO, Anat. Rec. *111*, 559 (1951).

[3] D. E. BLISS, Anat. Rec. *111*, 554 (1951). – R. FROST, R. SOLOUM et L. H. KLEINHOLZ, Anat. Rec. *111*, 572 (1951). – V. J. HAVEL et L. H. KLEINHOLZ, Anat. Rec. *111*, 571 (1951). – B. TRAVIS, Anat. Rec. *111*, 503 (1951).

[4] D. E. BLISS et J. H. WELSH, Biol. Bull. *103*, 157 (1952). – L. V. PASSANO, Anat. Rec. *111*, 559 (1951).

[5] D. E. BLISS, Anat. Rec. *111*, 554 (1951). – D. E. BLISS et J. H. WELSH, Biol. Bull. *103*, 157 (1952). – L. V. PASSANO, Anat. Rec. *111*, 559 (1951). – J. H. WELSH, Anat. Rec. *111*, 442 (1951).

[6] M. GABE, C. r. Acad. Sci. *235*, 90 (1952); *235*, 900 (1952); *235*, (973 1952).

ment au cours des modifications que subit la glande du sinus dans la période préparatoire à la mue[1].

La démonstration d'une sécrétion propre de la glande du sinus permet de retrouver, chez les Crustacés Malacostracés, une situation analogue à celle qui a été évoquée à propos des corpora cardiaca des Insectes Ptérygotes. Comme dans ce dernier cas, il y a lieu d'abandonner la conception suivant laquelle la glande du sinus ne serait qu'un réservoir où s'accumulerait le produit de sécrétion de l'organe X. L'étude morphologique et l'expérimentation démontrent clairement l'existence de rapports étroits entre les deux organes; on peut les expliquer, dans l'état actuel de nos connaissances, soit en admettant que le produit de l'organe X se comporte comme une stimuline à l'égard de la glande du sinus, soit en considérant le produit de sécrétion de la glande du sinus comme le résultat d'une transformation profonde du matériel neuro-sécrétoire, venu de l'organe X.

e) La glande cérébrale des chilopodes

Holmgren signale, à l'occasion d'une étude comparée des centres nerveux chez les Arthropodes[2], l'existence, chez *Lithobius forficatus*, d'un organe sensoriel innervé par le protocerebron et situé dans les parties latérales de la tête. Fahländer[3] montre la constance de cette formation chez des représentants des 4 ordres de Chilopodes et estime que la morphologie de ses cellules est plutôt celle de cellules glandulaires que de cellules nerveuses; il propose, en conséquence, le terme de «glande cérébrale» pour désigner l'organe en question et discute son homologie éventuelle avec les corpora allata des Insectes ou l'organe X des Crustacés. Hanström[4] envisage avec réserve, en se fondant sur la description de Fahländer, l'homologie éventuelle de cette glande cérébrale et de l'organe X.

L'étude histologique de cet organe conduit, en réalité, à des conclusions assez différentes[5].

α) La glande cérébrale est innervée par un nerf dont les neurones d'origine, situés au voisinage immédiat des globuli, possèdent tous les attributs morphologiques de cellules neuro-sécrétrices; le produit de sécrétion, colorable par tous les colorants acides et par l'hématoxyline chromique de Gomori, chemine le long des axones et parvient dans la glande, où il peut être mis en évidence.

β) Dépourvue de tout canal excréteur, la glande cérébrale est constituée de cellules qui parcourent un véritable cycle sécrétoire, caractérisé par l'accumulation de grains acidophiles, conservés par les fixateurs à base d'alcool et dépourvus d'affinité pour l'hématoxyline chromique de Gomori.

Les recherches récentes font donc apparaître une grande similitude des corpora cardiaca des Insectes Ptérygotes, de la glande du sinus des Crustacés Malacostracés et de la glande cérébrale des Chilopodes. Les trois organes sont situés au voisinage des ganglions cérébroïdes; ils reçoivent une innervation protocérébrale et l'étude histologique des neurones d'origine démontre, dans les trois, leur caractère neuro-sécréteur. Le produit de sécrétion parvient aux trois organes en cheminant le long des axones et s'y accumule. Mais, dans les trois cas, des méthodes suffisamment électives démontrent la présence d'un produit de sécrétion propre, différent du matériel neuro-sécrétoire, ce qui interdit de considérer ces organes comme de simples réservoirs.

Il y a lieu de rappeler que ces trois systèmes neuro-sécréteurs présentent de grandes analogies avec le système hypothalamo-hypophysaire, analogies qui ont été soulignées, à propos des corpora cardiaca des Insectes Ptérygotes, par Hanström[1], par E. et B. Scharrer[2]. En effet, les noyaux hypothalamiques des Vertébrés comportent des cellules neuro-sécrétrices très semblables à celles des Arthropodes et le cheminement de leur produit de sécrétion jusqu'à la neuro-hypophyse a été démontré par l'étude morphologique[3], par les résultats de l'hypophysectomie et de la section de la tige pituitaire[4]; la mise en évidence des hormones «post-hypophysaires» dans les noyaux hypothalamiques[5] incite à admettre, ici aussi, que la neuro-hypophyse représente simplement un «réservoir» d'hormones hypothalamiques; mais, comme chez les arthropodes, une fonction sécrétrice propre de la neuro-hypophyse existe chez certains Vertébrés[6].

L'existence de relations entre les corpora allata des Insectes Ptérygotes et des cellules neuro-sécrétrices est moins évidente; il existe, toutefois, quelques données anatomiques et physiologiques en sa faveur.

Quant à la glande ventrale ou prothoracique des Insectes Ptérygotes, ses rapports fonctionnels avec la neuro-sécrétion des ganglions cérébroïdes sont solidement établis chez quelques Insectes holométaboles et il existe des indices en faveur de ses rapports anatomiques avec les cellules neuro-sécrétrices du ganglion sous-œsophagien.

Dans l'ensemble, il y a donc lieu d'admettre que tous les organes endocrines céphaliques ou prothoraciques connus chez les Arthropodes présentent des connexions anatomiques ou des relations fonctionnelles avec des cellules neuro-sécrétrices; ce fait souligne l'importance de la notion de neuro-sécrétion dans la physiologie des Arthropodes.

Summary

The morphological and physiological data which indicate relations between neurosecretory cells and endocrine glands in the Arthropoda are briefly summarized. The corpora cardiaca of insects, the sinus glands of crustaceans and the cerebral glands of chilopods are anatomically connected with protocerebral neurosecretory cells; the secretory product of these cells can be demonstrated in the organs, as well as a second secretory material produced *in situ*. The functions of the corpora cardiaca and those of the sinus glands are controlled by the protocerebral neurosecretory cells (pars intercerebralis in the *insecta Pterygota*, paired frontal organs in the *thysanoura*, X-organs in the *crustacea malacostraca*). The innervation of the corpora allata of insects is also furnished by neurosecretory cells, but the functional connections are less clear. The secretory rhythm of the prothoracic glands of holometabolous insects is controlled by the protocerebral neurosecretory cells, and the ventral glands of the *Insecta Paleoptera* are anatomically connected to neurosecretory cells lying in the suboesophagal ganglion.

[1] M. Gabe, C. r. Acad. Sci. *235*, 900 (1952); *235*, 973 (1952).

[2] N. Holmgren, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. *56*, 1 (1916).

[3] K. Fahländer, Zool. Bidr. Uppsala *17*, 1 (1938).

[4] B. Hanström, Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. [3], *18*, 1 (1940).

[5] M. Gabe, C. r. Acad. Sci. *235*, 1430 (1952).

[1] B. Hanström, Kungl. Fysiogr. Sällsk. Hdl., N. F. *52*, n° 4 (1941).

[2] E. Scharrer et B. Scharrer, Biol. Bull. *87*, 242 (1944).

[3] W. Bargmann, W. Hild, R. Ortmann et Th. Schiebler, Acta neurovegetativa *1*, 233 (1950). – K. G. Wingstrand, Thèse, Lund (1951).

[4] W. Hild, Bargmann *et al.*,[3] et Virchows Archiv *319*, 526 (1951). – F. Stutinsky, C. r. Soc. Biol. *145*, 367 (1951). – E. A. Scharrer et G. J. Wittenstein, Anat. Rec. *112*, 387 (1952).

[5] W. Hild et M. Zettler, Exper. *7*, 189 (1951).

[6] E. Scharrer, Z. Zellforsch. mikr. Anat. *37*, 196 (1952).

Die Erforschung der Wirkstoffe des Mutterkorns beschäftigte namhafte Chemiker und Apotheker während Jahrzehnten. Einen ersten Markstein bedeutete die Entdeckung und Reindarstellung des Alkaloids Ergotamin in den Laboratorien der Sandoz A.G., wo in der Folge auch die Auffindung und Herstellung weiterer für die Medizin äusserst wertvoller Mutterkorn-Reinalkaloide gelang. Neue therapeutische Aspekte eröffnete die erstmals bei Sandoz erfolgte Hydrierung dieser Stoffe. Folgende Präparate sind das Ergebnis dieser Forschungen:

Cafergot

Dihydroergotamin-Sandoz

Gynergen

Hydergin

Methergin

Neo-Gynergen

Partergin

SANDOZ

S A N D O Z A. G.

Eine Monographie über den Stand der Mutterkorn-Forschung steht Interessenten zur Verfügung.

NEUERSCHEINUNG

Gegenwartsprobleme der Ernährungsforschung
Present Problems in Nutrition Research
Les problèmes actuels de la nutrition

SYMPOSIUM BASEL, 1.–4. X. 1952

Unter dem Patronat der Internationalen Union der Ernährungswissenschaften – Under the auspices of the International Union of Nutrition Sciences – Sous le patronage de l'Union internationale des sciences de la nutrition
Direction: F. Verzár – Organisation: Experientia

Beiträge:

E. Abramson, W. R. Aykroyd, K. Bernhard, A. B. L. Beznák, E. J. Bigwood, H. D. Cremer, D. P. Cuthbertson, H. Dam, V. Demole, S. J. Folley, L. J. Harris, O. Högl, K. Lang, K. Thomas, J. Trémolières, A. G. van Veen, A. I. Virtanen, H. Kraut, J. Kühnau, S. Markees, T. H. Moore, A. Schürch, J. C. Somogyi, F. Terroine etc.

Ganzleinenband – Full cloth – Relié en toile – 1953. 312 Seiten. Fr. 32.– (DM 32.–)

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL/STUTTGART